دانشگاه اصفهان
دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی
سلولی و مولکولی، آزمایشگاه میکروبیولوژی

آزمایشگاه میکروب شناسی صنعتی (بیوتکنولوژی میکروبی)

مقدمه

دکتر سهلا عباسی

مقدمه‌ای بر میکروبیولوژی صنعتی

میکروبیولوژی کاربردی (Applied Microbiology) شاخه ای از علم میکروبیولوژی است که عبارت است از استفاده از دانش بدست آمده از میکروارگانیسم‌ها برای انجام مقاصد کاربردی .این مقاصد شامل تولید محصولات تجاری و صنعتی مانند: آنزیم‌ها، تولید محصولات دارویی مانندآنتی بیوتیک‌ها، تولید محصولات غذایی مانند سرکه و اسید سیتریک، رفع آلودگی‌های زیست محیطی مانند تولید کمپوست، رفع مشکلات صنایع از جمله رفع یا جلوگیری از خوردگی دستگاه ها و ... می باشد.

میکروبیولوژی کاربردی به دو شاخه‌ی اصلی تقسیم می شود :

۱ میکروبیولوژی صنعتی یا Industrial Microbiology

۲ میکروبیولوژی محیطی یا Environmental Microbiology

میکروبیولوژی صنعتی

- میکروبیولوژی صنعتی را می توان معادل **بیوتکنولوژی میکروبی** در نظر گرفت و تعریفی که برای این شاخه از علم آمده است این است که میکروبیولوژی صنعتی یا بیوتکنولوژی میکروبی عبارت است از استفاده از میکروارگانیسم‌ها به جای استفاده از روش‌های شیمیایی برای تولید محصولات با ارزش و پردرآمد در صنعت.

- علت استفاده از روش‌های میکروبی به جای روش‌های شیمیایی برای تولید مواد مختلف شامل کمتر بودن هزینه‌های تولید در روش‌های میکروبی، بالاتر بودن راندمان تولید در آن و کمتر بودن مشکلات زیست محیطی در روش‌های میکروبی می باشد.

- در بیوتکنولوژی معمولا روش‌های بیوتکنولوژی میکروبی به روش‌های بیوتکنولوژی گیاهی و جانوری ترجیح داده می‌شود و تولید مواد به وسیله میکروارگانیسم‌ها نسبت به گیاهان و جانوران به دلایل مختلف ارجحیت دارد.

دلایل ارجعیت بیوتکنولوژی میکروبی به بیوتکنولوژی گیاهی و جانوری

- ✓ توانایی تولید حجم بالای محصول در میکروارگانیسم‌ها
- ✓ سرعت رشد بالاتر در آنها
- ✓ استفاده میکروب‌ها از سوبستراهای ارزان قیمت
- ✓ تنوع تولید محصولات مختلف در آن‌ها
- ✓ قابلیت بالای دستکاری ژنتیکی جهت افزایش میزان تولید محصول در میکروارگانیسم‌ها
- ✓ قابلیت بالای دستکاری ژنتیکی آن‌ها جهت تولید محصولات جدید

تاریخچه‌ی میکروبیولوژی صنعتی

- سنتی: هزاران سال پیش
- بررسی علمی مبنای فرایندهای تخمیری: ۱۵۰ سال پیش
- ۱۸۵۷: کشفیات و عملکرد پاستور: مبنای میکروبی فرایندهای تولید آبجو، مبنای میکروبی فساد مواد غذ ایی، توسعه فرایند استریلیزاسیون
- ۱۸۸۳: خالص سازی سویه تولید کننده آبجو
- ۱۹۱۳: توسعه فرایند تولید استون بوتانول
- دهه ۱۹۲۰ : تولید اسید سیتریک
- دهه ۱۹۴۰: تولید پنی سیلین
- دهه ۱۹۷۰ : تولید آنتی بیوتیک‌ها
- ۲۰ سال اخیر: توسعه مهندسی ژنتیک

تخمیر و انواع آن

تخمیر (Fermentation) از واژه لاتین Fevere به معنی جوشان گرفته شده و اشاره به تولید گاز در فرایندهای تخمیری میکروبی از جمله ترش شدن ماست و ورآمدن خمیر نان دارد .**تعریف** تخمیر از لحاظ بیوشمیایی و صنعتی متفاوت می باشد.

از نقطه نظر بیوشیمیایی و متابولیسمی، تخمیر یک واکنش اکسید و احیاء می‌باشد که در آن الکترون‌ها در غیاب زنجیره انتقال الکترون از دهنده الکترون به یک ماده آلی به عنوان گیرنده نهایی الکترون می‌رسد.

در حالی که از نقطه نظر بیوتکنولوژی و میکروبیولوژی صنعتی، تخمیر به کلیه فرایندهای صنعتی میکروبیولوژیک گفته می‌شود که در آن از کشت انبوه میکروارگانیسم‌ها برای تولید محصولات صنعتی استفاده می‌شود چه در شرایط هوازی انجام شود و چه در شرایط بی هوازی.

فرایندهای تخمیری را از لحاظ نوع محصول نهایی که در آنها تولید می شود به پنج دسته کلی تقسیم می کنند که شامل:

۱ فرایندهای تولید توده زیستی: هدف این فرآیندها، تولید توده سلولی است و خود توده سلولی به عنوان محصول است. مانند خمیر مایه نان و پروتئین تک یاخته (SCP)

۲ فرایندهای تولید آنزیم‌های میکروبی: هدف از آنها، تولید و استخراج آنزیم‌های مهم تجاری از جمله پروتئاز و لیپاز

۳ فرایندهای تولید متابولیت‌های میکروبی: هدف تولید و استخراج ترکیبات متابولیسمی باکتری مانند قندها، اسیدهای آمینه، اسیدهای آلی، آنتی بیوتیک‌ها و .

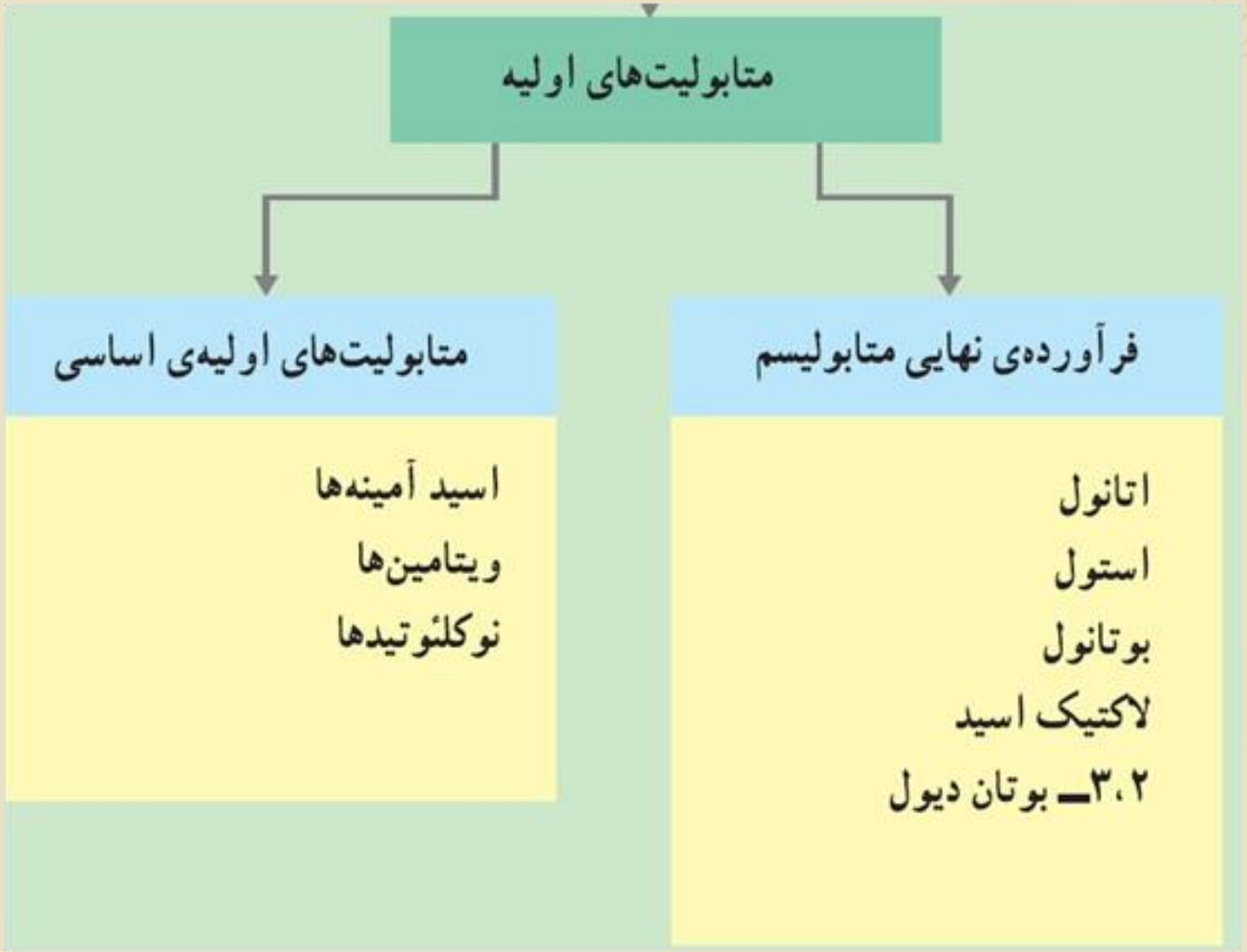
۴ فرایندهای تولید محصولات نوترکیب: هدف تولید پروتئین‌های حیوانی، گیاهی و انسانی به وسیله باکتری‌ها و مخمرها از جمله *اشرشیا کلای* و *ساکارومایسس سرویزیه* می‌باشد. مانند تولید انسولین، اینترفرون‌ها، فاکتور هشت و....

۵ فرایندهای دگرگون سازی: (Transformation) هدف تبدیل یک ماده بی ارزش یا کم ارزش به یک ماده ارزشمند به وسیله میکروارگانیسم‌ها به عنوان کاتالیزور است مانند تولید داروهای استرویيدی.

انواع متابولیتهای میکروبی:

متابولیت‌های اولیه به متابولیت‌هایی گفته می‌شود که در حین فاز فعال رشدی میکروارگانیسم‌ها یا به عبارت دیگر زمانی که آن‌ها در حال تکثیر و تولید مثل هستند، تولید می‌شوند. این ترکیبات یا برای رشد میکروب‌ها ضروری هستند یا به عنوان محصول نهایی متابولیسم انرژی آن‌ها تولید می‌شوند .مانند اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، اسیدهای آلی ، الکل‌ها و.... متابولیت-های اولیه را میکروب‌ها در *فاز رشدی* خود یعنی *از اواسط فاز تاخیری (Lag Phase) تا اواخر فاز سکون و به ویژه* در *فاز لگاریتمی* تولید می‌کنند. به دوره‌ی تولید متابولیت‌های اولیه تروفوفاز گفته می‌شود.

متابولیت‌های ثانویه را باکتری فقط در شرایط رقابت، یعنی *از اواخر فاز لگاریتمی تا اویل فاز مرگ و به ویژه در فاز سکون* تولید می‌کند. به دوره تولید متابولیت‌های ثانویه اصطلاحاً ایدیوفاز می‌گویند.

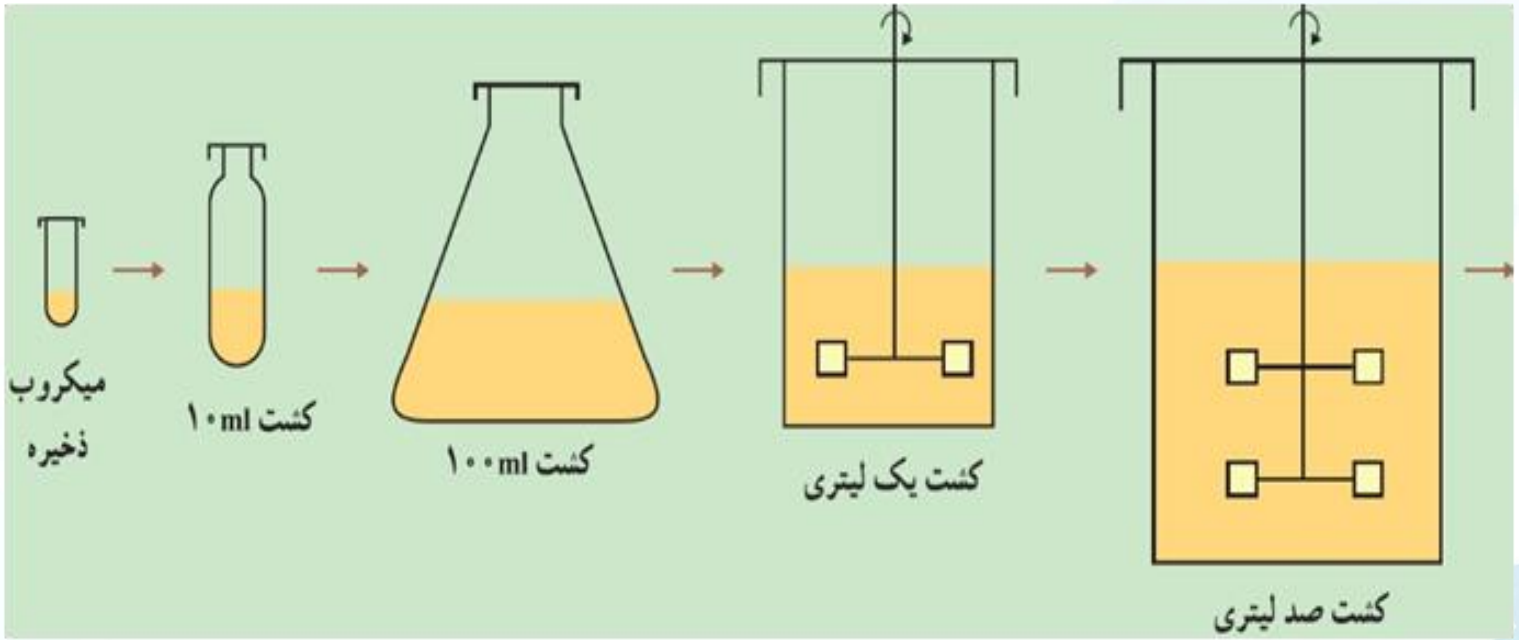

متابولیت‌های اولیه
فرآورده‌ی نهایی متابولیسم
اتانول
استول
بوتانول
لاکتیک اسید
۳،۲ــ بوتان دیول
متابولیت‌های اولیه‌ی اساسی
اسید آمینه‌ها
ویتامین‌ها
نوکلئوتیدها

فر آیند بالا دستی

- ✓ **غربالگری سویه مولد:** انتخاب میکروارگانیسم صنعتی یا توسعه میکروارگانیسم تا حصول میکروارگانیسم صنعتی با روشهای مختلف
- ✓ **انتخاب محیط مناسب رشد و تخمیر برای سویه‌ها:** انتخاب محیط کشت مناسب از نظر صنعتی، ارزان، فراوان و مناسب از نظر رشد و تولید محصول
- ✓ تنظیم **ترکیب محیط کشت** با توجه به وضعیت موجود برای مرحله ی توسعه مایه‌ی تلقیح و تخمیر اصلی
- ✓ **استریل و سترون سازی** محیط کشت، تجهیزات ،لوازم کشت و هوا
- ✓ **توسعه مایه تلقیح مناسب:** بهترین تعداد میکروارگانیسم در بهترین شرایطش
- ✓ تامین تجهیزات و لوازم کل فرآیند
- ✓ افزودن مایه تلقیح (میکروارگا نیسم به محیط کشت استریل شده)

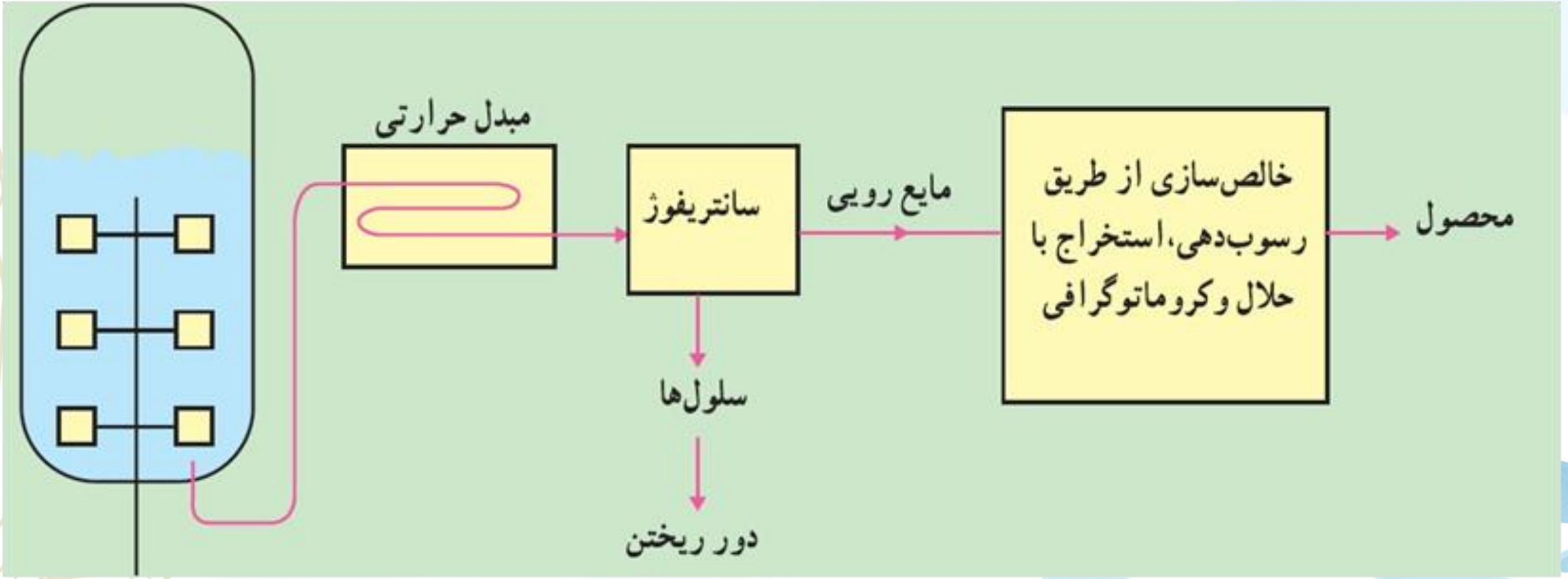
پس از انجام عملیات بالا دستی در حین فرآیند **تولید محصول یا میکروارگانیسم**، باید شرایط زیر رعایت شود:

- ✓ کنترل فرآیند در حین تخمیر
- ✓ حفظ وضعیت استریل در حین تخمیر
- ✓ تامین مواد افزودنی در حین تخمیر
- ✓ انتخاب زمان مناسب بر ای خاتمه تخمیر در وضعیت بسته



فر آیند پایین دستی

- ✓ جداسا زی توده زیستی یا بیومس
- ✓ تخریب دیواره سلول برا ی آزاد سازی محصولات درون سلولی و چسبیده به دیواره سلول (در محصولات ترشح شده به خارج سلول این مرحله وجود ندارد)
- ✓ تغلیظ محصول
- ✓ کنترل کیفی و کمی محصول
- ✓ بسته بندی
- ✓ استریل کردن پسماندها در صورت استفاده از ارگانیسم مهندسی شده
- ✓ تصفیه


مبدل حرارتی
سانتریفوژ
مایع رویی
خالص‌سازی از طریق
رسوب‌دهی، استخراج با
حلال و کروماتوگرافی
محصول
سلول‌ها
دور ریختن

کربوهیدرات ها مهمترین منابع کربن و انرژی جهت انجام تخمیرهای میکروبی هستند، البته گاهی الکل‌ها ، آلکان‌ها و اسیدهای آلی و در مواردی چربی‌های حیوانی و روغن‌های گیاهی به عنوان مکمل منبع اصلی کربن اضافه می‌شود.

- ✓ ملاس
- ✓ در ساختار عصاره مالت حدود 90٪ کربوهیدرات وجود دارد
- ✓ نشاسته و دکسترین
- ✓ ضایعات حاوی قندی که از کارخانجات تولید خمیر کاغذ تهیه می‌شود و حاوی دی اکسید سولفور می‌باشد، پس از انجام پاره ای تغییرات، تحت عنوان **لیکور** ضایعات سولفیت جهت کشت مخمرها به کار می‌رود.
- ✓ لیگنوسلولز موجود در دیواره سلولی گیاهان که از سه پلیمر سلولز، همی سلولزو لیگنین تشکیل شده است.

- بخش عمده **آب پنیر** ساخته شده از قند لاکتور
- هیدروکربن ها تقریبا همگی توسط میکروب‌ها مصرف می‌شوند و مهمترین آنها N- آلکانها هستند. مخلوط آلکا ن‌ها و الکل‌هایی نظیر متانول به عنوان منبع کربن توسط برخی میکرو ارگانیسم‌ها مصرف می شوند .
- چربی ها و روغن ها : به ازای واحد وزن انرژی بیشتری در مقایسه با کربوهیدرات ها تولید کرده و به علاوه حجم کمتری را نیز نسبت به آنها ا شغال می کنند . از این رو می توانند برای تخمیرهای نیمه پیوسته مفید باشند که مخزن کمتری برای ذخیره منبع کربن اضافی سیکل بعد مورد نیاز باشد .

با تشکر از توجه شما
با آرزوی سلامتی و موفقیت