فصل منتجات التقنية الحياتية

Downstream processing in biotechnology

يطلق مصطلح فصل المنتجات على جميع الخطوات اللازمة لفصل وتنقية المنتوج من أي نوع من العمليات الصناعية. تحتل هذه العملية أهمية في التقنية الحياتية نظراً للاختلاف الكبير بين الوضع النهائي للمنتجات ووضعها الأصلي داخل أجهزة التخمر. مثال على ذلك تعطي عملية التخمر المثالية مزيجاً من مواد صلبة منتشرة تتمثل(بالخلايا أو بعض مكونات الوسط الغذائي) وكذلك محلول مخفف وقد يكون المنتوج المرغوب داخل الخلايا واحداً من مكونات مزيج معقد جداً أو يكون في سائل مخفف أو قد يكون موزعاً بين الاثنين. لذلك يحتاج إلى فصل وتركيز وتنقية ضمن عمليات دقيقة وفعالة مع الأخذ بنظر الاعتبار الجانب الاقتصادي، حيث وجد أن كلفة عملية الفصل تساوي**20-60%**من كلفة عملية التصنيع. إن بعض عمليات الفصل المختبرية غير اقتصادية عند استخدامها على نطاق تجاري، فضلاً عن ذلك فإن بعض منتجات التقنية الحياتية هي عبارة عن مركبات حساسة وتكون فعالة فقط تحت ظروف معينة و محدودة من الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة والتركيز. لذلك يجب العناية الفائقة في اختيار واستخدام الطرق العلمية اللازمة لفصل المنتوج من أجل ان تعمل بكفاءة عالية، ولاتوجد عملية واحدة مثالية لكل المنتوجات أو سلسلة من العمليات تكون ملائمة لكل المنتوجات بل يجب دمج عمليات منفردة وبطريقة ملائمة للوصول إلى عملية فصل ناجحة.

ومن هذه العمليات:

1- فصل الجسيمات الدقيقة Separation of particles

تتمثل الخطوة الأولى بعد انتهاء عملية التخمر بفصل المواد الصلبة والتي تشمل الخلايا أو الخلايا والأنزيمات المثبتة على مواد مدعمة إضافة إلى المكونات الصلبة للوسط الغذائي. احياناً يسبب حجم خلايا البكتريا صعوبات في عمليات الفصل ويمكن فصل الخلايا ذات الحجم الاكبر بسهولة أكثر باستعمال طريقة الترسيب البسيط كما تعتمد سهولة الفصل على طبيعة وسط التخمر ودرجة الحرارة والرقم الهيدروجيني. هناك بعض الحالات يجب إضافة مواد تساعد على الترشيح أو تساعد في عملية الفصل وتتم عملية الفصل بالطرق التالية:

أ-الترشيح Filtration

تستخدم هذه الطريقة بصورة واسعة وتعد مثالية في فصل الاعفان والبكترياالخيطية من وسط التخمر، ويمكن استعمالها ايضاً مع الكتل المتلبدة من الخمائر. وهناك المرشحات الضاغطة والتي تعتبر من أكثر طرق الترشيح المستعملة، وكذلك الترشيح بالمرشحات الدوارة تحت التفريغ خاصة في فصل الخمائر.

ب- الطرد المركزي Centrifugation

تستخدم في فصل الخلايا البكترية الصغيرة الحجم جداً إلا أن هناك بعض الصعوبات نظراً للفرق القليل بين كثافة الخلايا والجزء السائل. وتستخدم هذه الطريقة كثيراً على نطاق مختبري

في فصل المواد البايولوجية ولكن استخدامه على النطاق الصناعي يصاحبه بعض الصعوبات بالإضافة إلى ارتفاع كلفته.

ج- التلبيد والطفو Flocculation & flotation

تعد عملية فصل خلايا الخميرة صغيرة الحجم عن وسط التخمر السائل من العمليات الصعبة جداً حتى في حالة استخدام الطرد المركزي ويمكن تحسين عملية فصلها باستخدام عملية التلبيد. يحدث التلبيد بصورة عكسية في حالة معادلة الشحنات الموجودة على سطح الخلية بواسطة أيونات مغايرة الشحنة، كما يحدث بصورة غير عكسية عندما تشكل جزيئات البوليمر جسراً بين الخلايا. وتكون العوامل المساعدة على التلبيد عبارة عن املاح غير عضوية ومواد شبه غروية ومواد عضوية الكتروليتية (المنحلة كهربائياً) . تعتمد عملية التلبيد على عوامل اخرى مثل طبيعة وعمر الخلايا والحالة الايونية ودرجة الحرارة فضلاً عن عوامل التلبيد. ويمكن استخدام الطفو في حالة عدم تكوين كتلة متلبدة ذات كثافة عالية، وفي هذه الحالة تقوم فقاعات الغاز الصغيرة بادمصاص وسحب الاحياء المجهرية. وتعتمد عملية الفصل على حجم فقاعات الغاز ويمكن نشر الغاز في داخل الوسط أو تكوين فقاعات صغيرة جداً من الغازات المذابة وذلك من خلال اطلاق الضغط الزائد أو بواسطة الانحلال الكهربائي ويمكن تشجيع تكوين الرغوة باستعمال مواد مجمعة غير ذائبة مثل الاحماض الدهنية طويلة السلسلة أو الامينات ثم تزال الدقائق المجتمعة في طبقة الرغوة. وتستعمل عملية التلبيد والطفو مجتمعة في انتاج بروتين احادي الخلية وبكفاءة عالية في فصل الكتلة الحيوية.

2- تمزيق الخلايا Disintegration of cells

يتم احياناً تمزيق الخلايا لاستخلاص بعض المنتجات الموجودة في داخل الخلايا مثل الأنزيمات الداخلية. وتعد عملية تمزيق خلايا الاحياء المجهرية من العمليات الصعبة وذلك لقوة جدار الخلية والضغط الازموزي العالي داخل الخلايا. ويصعب استخدام الطرق الميكانيكية البسيطة مثل الطحن لتمزيق الخلايا نظراً لحجمها المتناهي في الصغر ويجب ان تجرى عملية التكسيردون تلف بعض مكونات الخلية المرغوبة ومن الطرق المستخدمة في تمزيق خلايا الاحياء المجهرية:

أ- الطرق الميكانيكية

تتضمن استخدام عملية الطحن في المطاحن الكروية والمطاحن شبه الغروية فضلاً عن استخدام الضغط واجهزة التجنيس والموجات فوق الصوتية. ومن الطرق الاخرى واسعة الاستعمال هي استخدام ضغط عال يعقبه تخفيض الضغط وينتج عن ذلك جريان معلق الخلايا خلال باثق دقيق حيث يحصل تكسير الخلايا نتيجة للتجزئة. وتستخدم الموجات فوق الصوتية على نطاق مختبري ويعاب عليها على نطاق صناعي بسبب الحرارة المتولدة.

ب- الطرق غير المكيانيكية

يمكن تكسير خلايا الاحياء المجهرية أيضاً بواسطة الطرق الحرارية أو الكيميائية أو الأنزيمية، ويعد التجفيف من الطرق الواسعة الاستعمال الذي يسبب تغيراً في تركيب جدار الخلية وبالتالي يسهل عملية الاستخلاص اللاحقة لمحتويات الخلية بواسطة المحاليل المتعادلة أو المحاليل الملحية. وتعد طريقة تكسير الخلايا بواسطة الانزيمات أو الموجات فوق الصوتية من

أحسن الطرق للحصول على انزيمات داخلية فعالة. بينا تعد الطرق الحرارية والأزموزية أقل جودةً من الطرق السابقة.

3-طرق الاستخلاص Extraction methods

يتضمن استخلاص المنتجات الحيوية فصل وتركيز تلك المنتجات. وتستخدم هذه الطريقة للحصول على منتجات خلوية تفرز خارج أو داخل الخلية والتي تتحرر بعد معاملتها بطريقة مناسبة. وتتلخص الطريقة في مزج المعلق الذي يحتوي على المنتوج المرغوب مع مذيب غير قابل للامتزاج ويذوب فيه المنتوج بصورة جيدة ثم استرجاعه بسهولة. إن عملية الاستخلاص تتم بعدة طرق أما يتم الاستخلاص بخطوة منفردة أو استخلاص متعدد المراحل.

4-طرق التركيز Concentration methods

تكون عادة منتجات التقنية الحياتية ذات تركيز واطئ ويزداد هذا التركيز في خطوات الفصل الابتدائية مثل الاستخلاص وعموماً يجب تركيز هذه المنتجات قبل تنقيتها. يجب العناية في اختيار طرق التركيز لان عدد من المنتجات غير ثابتة وأهم هذه الطرق:

أ- التبخير Evaporation

تستخدم عادة مع المستخلصات التي تم الحصول عليها بواسطة الاستخلاص بالمذيبات ثم يتم استرجاع المذيبات المتبخرة، وتستخدم في هذه الحالة عادة مجففات الرذاذ spray dryer كما يسمح باستخدام اجهزة التبخير المستمرة لتركيز المنتجات الحساسة للحرارة وكذلك المبخرات ذات الغشاء الرقيق التي تستخدم في تركيز السوائل اللزجة التي يصل التركيز فيها الى اعطاء منتوج جاف.

ب- الترشيح الغشائي Membrane filtration

حيث يتم التركيز دون تبخير أي باستخدام درجات الحرارية العادية ويجب ان يكون الضغط المسلط على الغشاء اعلى من الضغط الازموزي وتستخدم اغشية تسمح اغشية بعبور الجزيئات حسب أوزانها الجزيئية. المشكلة الرئيسية في هذه المرشحات هي عمر الغشاء الذي يتأثربشكل كبير بدرجة نظافتها حيث ان عدم تنظيفها بصورة كافية تؤدي الى انخفاض معدل الجريان وتلوثها بمنتجات اخرى أو احتمال تلوثها بالاحياء المجهرية.

ج- راتنجات الادمصاص والتبادل الايوني Ion exchange and adsorption resins

كما هو الحال في استخدام الفحم النباتي المنشط active charcoal حيث تعطي هذه الطريقة تركيزاً عالياً جداً وفي خطوة واحدة فقط.

1- راتنجات التبادل الايوني:

وهي عبارة عن بوليمرات تحمل مجاميع قابلة للتأين ومرتبطة بها بقوة وهذه المجاميع أما أنيونية أو كاتيونية وتكون في حالة متأينة أو غير متأينة، و استعمالها يكون أما بطريقة الوجبات وذلك باضافتها على شكل وجبات ثم يزال الراتنج بطريقة التركيد decantation أو تعبأ في اعمدة الفصل الكروماتوغرافي.

2- راتنجات الادمصاص:

وهي عبارة عن بوليمرات مسامية والتي تعمل مجاميعها الفعالة على تحوير الاستقطابية دون أجراء التأين، واغلب المركبات تدمص بحالتها الكاملة وتسترجع بالاستخلاص بمذيبات عضوية وتغير رقم الحموضة أو القوة الايونية للطور السائل.

5- تنقية المنتجات Products purification

أ- التبلور Crystallization

وعادة تستخدم في تنقية المركبات ذات الوزن الجزيئي الواطئ مثل المضادات الحياتية كما هو الحال في تنقية البنسلين**G** حيث يستخلص من وسط التخمر بواسطة خلات البيوتايل ويبلور بإضافة خلات البوتاسيوم في محلول كحولي (أثيلي) وتتبع الخطوات نفسها في فصل وتنقية أكيتومايسين.

ب- طرق الكروماتوغرافي Chromatographic methods

تستخدم هذه الطرق في فصل المركبات ذات الاوزان الجزيئية الواطئة في حالة وجود حاجة لفصل مزيج من مكونات متشابهة كذلك تستعمل في فصل الجزيئات الكبيرة مثل الانزيمات في حالة تواجدها مع مركبات ذات طبيعة متشابهة وهناك عدة انواع من الكروماتوغرافي وهي:

كروماتوغرافي الادمصاص ، كروماتوغرافي التبادل الايوني ، كروماتوغرافي الالفة، كروماتوغرافي الترشيح الهلامي.

6- التجفيف Drying

تعد الخطوة الاخيرة في العديد من المنتجات الحيوية للحصول على منتجات ثابتة وملائمة للتداول والخزن، ويجب إزالة الرطوبة من المنتجات عند درجات حرارة منخفضة وذلك لحساسيتها للحرارة العالية و يمكن تحسين الثباتية الحرارية للمنتجات في بعض الحالات كما هو الحال مع الانزيمات والمواد الصيدلانية وذلك باضافة السكريات أو بعض المثبتات الخاملة وهناك عدة طرق للتجفيف منها

التجفيف تحت التفريغ Vacuum ، التجفيف بالراذاذ spray dry ، التجفيد freeze.