Fermentation Processes

تاریخچه صنعت تخمیر

Stage	Main Products	Culture Method	Strain Selection
1 Pre-1900	Alcohol	Batch	Pure yeast cultures used at the Carlsberg brewery (1886)
	Vinegar	Batch	Fermentations inoculated with 'good' vinegar
2 1900–1940	Bakers' yeast glycerol, citric acid, lactic acid and acetone/butanol	Batch and fed-batch systems	Pure cultures used
3 1940–date	Penicillin, streptomycin, other antibiotics, gibberellin, amino acids, nucleotides, transformations, enzymes	Batch and fed-batch common Continuous culture introduced for brewing and some primary metabolites	Mutation and selection programmes essential

4 1964–date	Single-cell protein using hydrocarbon and other feedstocks	Continuous culture with medium recycle	Genetic engineering of producer strains attempted
5 1982–date	Production of heterologous proteins by microbial and animal cells Monoclonal antibodies produced by animal cells	Batch, fed-batch or continuous Continuous perfusion developed for animal cell processes	Introduction of foreign genes into microbial and animal cell hosts. In vitro recombinant DNA techniques used in the improvement of stage 3 products
6 2000–date	Use of "synthetic biology" to improve established fermentations and develop new bulk chemical processes	Batch, fed-batch or continuous	Synthetic biology used to develop existing and novel fermentations

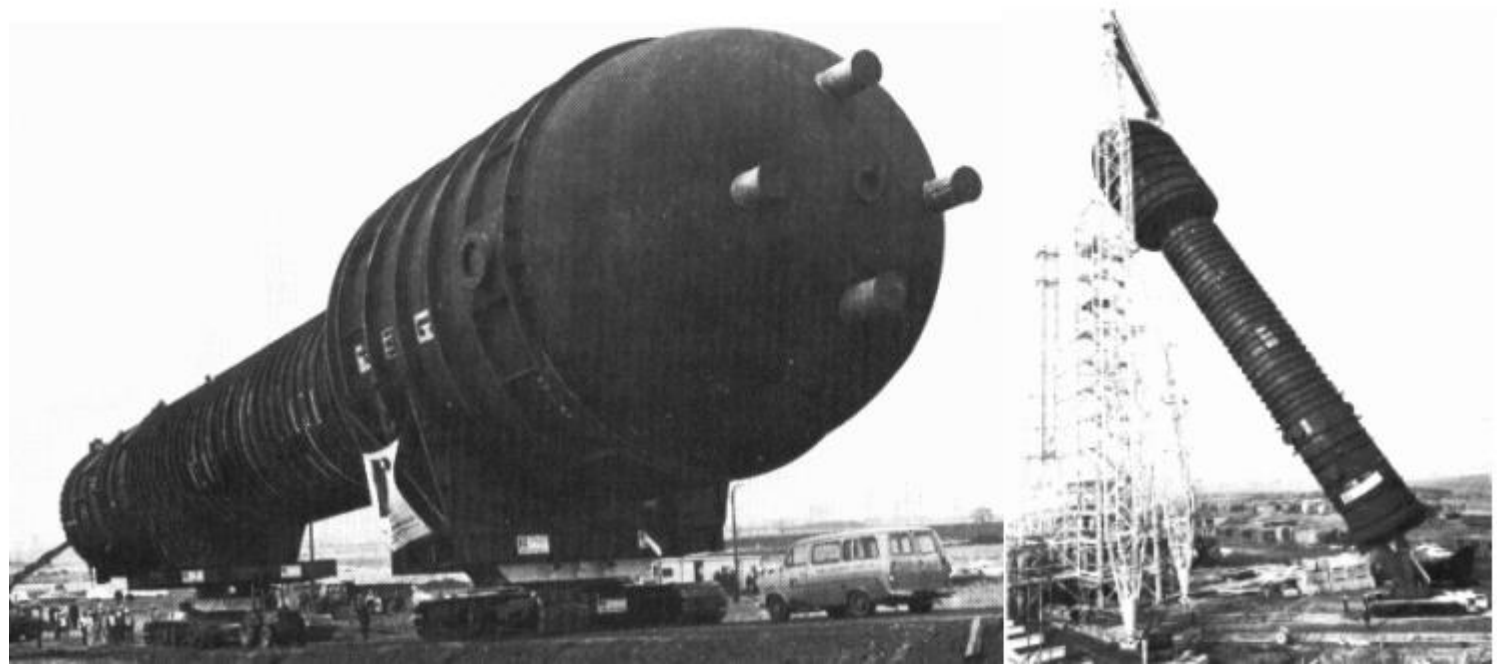
The world's largest industrial fermenter:

Airlift fermenter used by ICI for SCP production from methanol

Volume: 2300 m^3 (Effective reactor volume: 1560 m^3)

Height: 60 m

Diameter: 7 m



فرآیندهای تخمیری در مقیاس صنعتی به سه دسته زیر تقسیم بندی می شوند:

Primary-associated products: primary metabolites

Non-growth associated products: secondary metabolites

بچ (Batch): فرآیندی که در آن از ابتدا تا انتهای تخمیر محیط کشت تخمیرس مستقیما در دسترس میکروارگانیسم قرار می گیرد و در طول فرآیند هیچ نوترینتی اضافه یا کم نمی شود و تنها شرایط فیزیکوشیمیایی کشت کنترل می شود.

مهمترین معایب روش بچ: بالا بودن downtime (unproductive time=dead time)

مثال هایی از تولیدات صنعتی به روش Batch:

◄تولید داروی شیمی درمانی **Anthracycline** توسط ***Streptomyces capoamus***

◄تولید اسید لاکتیک توسط گونه های .***Lactobacillus*** spp

◄تولید پروپیونیک اسید توسط ***Propionibacterium acidipropioni***

◄تولید ۱ و ۳ بوتان دی ال توسط ***Clostridium diolis***

فرآیند فیدبچ (Fed-Batch):

در این پروسه یک یا بیش از یک نوترینت در طی رشد یا تولید محصول در داخل بیوراکتور اضافه می شود و محصولات تولیدی تا انتهای فرآیند تخمیر در داخل بیوراکتور باقی می مانند.

در این فرآیند نوترینت ها بصورت پیوسته یا متناوب داخل فرمانتور اضافه می شود و در انتهای تخمیر مشابه فرآیند بچ، محصول نهایی (بیومس یا سوپرناتانت) جهت فرآیندهای پایین دستی برداشت می شود.

◄مهمترین مزیت این نوع تخمیر حفظ غلظت سوبسترای فید شده در سطح مطلوب که خود به ممانعت از بازدارندگی فیدیبکی و حفظ دانسیته سولی کمک می کند.

مزایای کنترل سوبسترای فید شده:

Initial substrate concentration

Initial substrate feeding time

Initial substrate feeding rate

◄Catabolic repression

◄Substrate toxicity

◄حلالیت کم سوبسترا

◄زیادی سوبسترا

◄جبران آب از دست رفته در طی تخمیر

◄گارانتی حضور آنتی بیوتیک با جایگزینی آنتی بیوتیک مشابه در تولید پروتئین های نوترکیب

Regulatory systems in yeasts

Pasteur effect

Crabtree effect

Custer effect

◄ تولید بوتیریک اسید توسط کلستریدیوم بوتیریکم: تولید بیش از ۳۰ درصدی در فرآیند فیدبچ نسبت به بچ

◄ تولید نایسین توسط لاکتوباسیلوس لاکتیس زیر گونه لاکتیس

◄ تولید retamycin توسط *S. olindensis*

نکته بسیار بسیار مهم: پروسه های فید بچ هم کنترل می کنند نرخ رشد میکروب را و هم فرم رشد را (pellete یا free)

تخمیر continuous

در این فرآیند یک یا بیش از یک نوترینت بصورت پیوسته فید می شود و جریان پسماند که حاوی سلول و محصولات است بصورت پیوسته بازیافت می شود.

◄تولید الکل توسط ساکارومایسس سرویزیه ایموبیلیزه شده در آلژینات

◄تولید هیدروژن توسط باکتری فتوسنتز کننده بی هوازی رودواسپریلوم روبروم

تخمیرهای جامد و غوطه ور

Solid-state fermentation=substrate fermentation=SSF

Submerged fermentation=Smf

بخش های اصلی یک فرایند تخمیری:

بخش بالادستی:

- انتخاب میکروارگانیسم صنعتی یا توسعه میکروارگانیسم تا حصول میکروارگانیسم صنعتی با روش‌های مختلف
- انتخاب محیط کشت مناسب، ارزان، فراوان و مناسب از نظر رشد و تولید محصول
- تنظیم ترکیب محیط کشت با توجه به شرایط موجود برای توسعه مایه تلقیح و تخمیر اصلی
- کنترل فرایند در حین تخمیر
- انتخاب زمان مناسب برای خاتمه تخمیر
- حفظ شرایط استریل
- فراهم آوردن مواد افزودنی حین تخمیر

بخش پایین دستی:

- جداسازی توده زیستی
- تخریب دیواره سلولی برای آزادسازی محصولات درون سلولی و درون دیواره سلولی
- تغلیظ محصول
- خالص‌سازی محصول
- کنترل کمی و کیفی محصول
- بسته‌بندی
- استریل کردن پساب در صورت استفاده از ارگانیسم‌های تراریخته
- تصفیه پساب

عوامل موثر بر رشد بهینه میکروارگانیسم‌ها
منبع انرژی
مواد غذایی مورد نیاز برای رشد
عدم وجود بازدارنده‌ها
مایه تلقیح مناسب
شرایط فیزیکی و شیمیایی مناسب
محیط کشت مناسب برای یک تخمیر صنعتی
حداکثر بازدهی تولید محصول یا توده زیستی به ازاء هر گرم سوبسترای مصرف شده
بیشترین غلظت محصول یا توده زیستی
حداکثر سرعت تولید محصول
حداقل بازدهی محصولات ناخواسته
کیفیت یکنواخت، قیمت مناسب و سهولت دسترسی در تمام فصول سال
ایجاد حداقل مشکلات در حین آماده‌سازی و استریل کردن محیط کشت
سهولت هوادهی، به هم زدن، استخراج، خالص‌سازی و تصفیه پساب

Up to 24 elements for the biosynthesis of cell components:

- Major: **C, H, O, N**
- Relatively small amounts: **P, S**
- Low amounts: **Na, K, Mg, Ca, Cl**

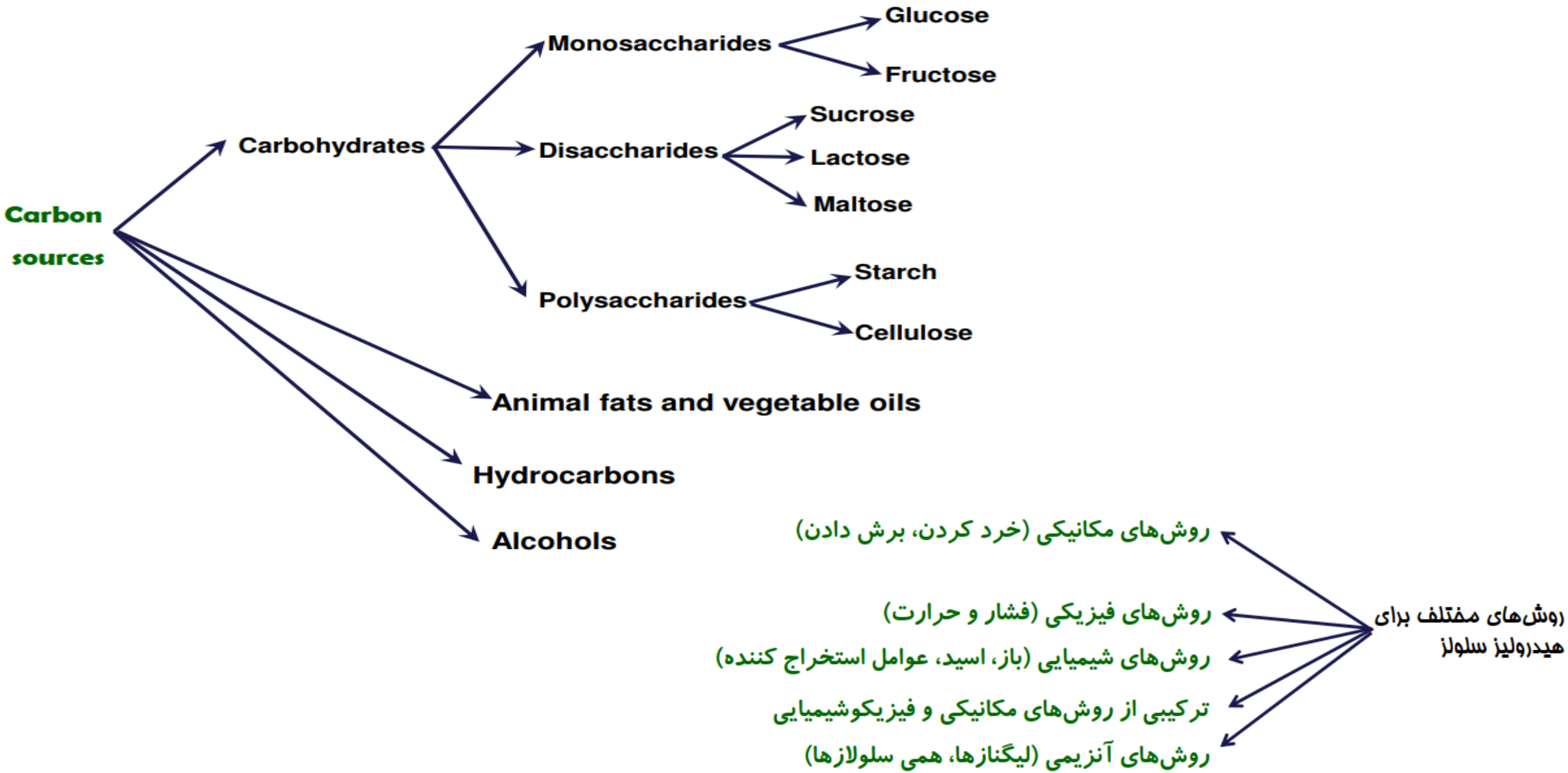
Trace amounts: **Mn, Fe, Co, Cu, Zn**

Some organisms: **Al, Va, Mo, I, Si, F, Sn, B**

Elemental composition of bacteria, yeast and fungi (% by Dry Weight)

Element	Bacteria (Luria, 1960; Herbert, 1976; Aiba, Humphrey, & Millis, 1973)	Yeasts (Aiba et al., 1973; Herbert, 1976)	Fungi (Lilly, 1965; Aiba et al., 1973)
Carbon	50–53	45–50	40–63
Hydrogen	7	7	
Nitrogen	12–15	7.5–11	7–10
Phosphorus	2.0–3.0	0.8–2.6	0.4–4.5
Sulfur	0.2–1.0	0.01–0.24	0.1–0.5
Potassium	1.0–4.5	1.0–4.0	0.2–2.5
Sodium	0.5–1.0	0.01–0.1	0.02–0.5
Calcium	0.01–1.1	0.1–0.3	0.1–1.4
Magnesium	0.1–0.5	0.1–0.5	0.1–0.5
Chloride	0.5	—	—
Iron	0.02–0.2	0.01–0.5	0.1–0.2

Element	Physiological function
Carbon	Constituent of organic cellular material, often the energy source
Nitrogen	Constituent of proteins, nucleic acids and coenzymes
Hydrogen	Organic cellular material and water
Oxygen	Organic cellular material and water, required for aerobic respiration
Sulfur	Proteins and certian coenzymes
Phosphorus	Nucleic acids, phospholipids, nucleotides and certain coenzymes
Potassium	Principal inorganic cation in the cell and cofactor for some enzymes
Magnesium	Cofactor for many enzymes, chlorophyls and in cell walls and membranes


Carbon sources
Carbohydrates
Monosaccharides
Glucose
Fructose
Disaccharides
Sucrose
Lactose
Maltose
Polysaccharides
Starch
Cellulose
Animal fats and vegetable oils
Hydrocarbons
Alcohols
روش‌های مختلف برای هیدرولیز سلولز
روش‌های مکانیکی (خرد کردن، برش دادن)
روش‌های فیزیکی (فشار و حرارت)
روش‌های شیمیایی (باز، اسید، عوامل استخراج کننده)
ترکیبی از روش‌های مکانیکی و فیزیکوشیمیایی
روش‌های آنزیمی (لیگنازها، همی سلولازها)