HNSJ Humanitarian & Natural Sciences Journal
ISSN: (e) 2709-0833
www.hnjournal.net
مجلة العلوم الإنسانية والطبيعية
مجلة علمية محكمة (التصنيف: NSP)
معامل التأثير العربي للعام 2020 = 0.44

عنوان البحث

التخمر وتطور صناعة المخمرات

وائل علي سوادي[1] علاء عبد الحسين حنتوش[2]

[1] قسم علوم الغذاء، كلية الزراعة، جامعة البصرة، العراق.
بريد الكتروني: zenaalyounis@yahoo.com
[2] وحدة المجهر الإلكتروني الماسح ، كلية الصيدلة ، جامعة البصرة، العراق.

HNSJ, 2022, 3(1); https://doi.org/10.53796/hnsj3117

تاريخ النشر: 2022/01/01م تاريخ القبول: 2021/12/21م

المستخلص

التخمر هو أحد التقنيات الحيوية التي استعملت منذ القدم لإنتاج المنتجات الغذائية المرغوبة ذات العمر المخزني الطويل والخصائص الحسية الجيدة. وتتمتع الأطعمة المخمرة بإمكانية تخزين بعضها في درجات حرارة البيئة المحيطة بها دون تلفها. وتؤدي بعض عمليات التخمير إلى زيادة القيمة الغذائية أو قابلية هضم المواد الغذائية وتكسيرها الى مركبات بسيطة سهلة الهضم. استخدمت المفاعلات الحيوية بمختلف أشكالها على نطاق واسع في العلوم البيولوجية والتكنولوجيا الحيوية الصناعية وهذا ما زاد من الطلب على تصاميم هندسية جديدة وتطوير عمل وتكنولوجيا المفاعلات الحيوية. ويعد إدخال أجهزة الكمبيوتر للتحكم في عمل المخمرات قفزة كبيرة في تطور المخمرات واصبحت تتمتع بمتانة وكفاءة عاليتين.

المخمر عبارة عن جهاز يستطيع ان يوفر البيئة المثلى لنمو الكائنات الحية المستخدمة في عملية التخمير للكثير من المنتجات مثل المشروبات الكحولية والإنزيمات والمضادات الحيوية والأحماض العضوية كذلك اللقاحات والهرمونات، ويجب التحكم في العمليات والتغيرات المختلفة التي تحدث اثناء عملية التخمر مثل درجات الحرارة، وسرعة السوائل، وسرعة التحريك والخلط، ومعدل التهوية، ومعدل التبريد أو شدة التسخين، ومعدل التغذية. وتتم عملية التخمير بعدة اليات او طرق وهي (الدفعات والتغذية شبه المستمرة وعملية تخمير المستمرة) وتجري في مخمرات صغيرة أو كبيرة الحجم حسب كمية المنتج.

RESEARCH TITLE

FERMENTATION AND THE DEVELOPMENT OF THE FERMENTERS INDUSTRY

Wael Ali Swadi[1], Alaa Abdul Hussein[2]

[1] Food Science Department, Agriculture College-Basrah University, Iraq
Email: zenaalyounis@yahoo.com
Scanning electron microscope unit, college of pharmacy, university of Basrah, Iraq.

HNSJ, 2022, 3(1); https://doi.org/10.53796/hnsj3117

Published at 01/01/2022 **Accepted at 21/12/2021**

Abstract

Fermentation is a biological process that has been used since ancient times to produce food products with long shelf life and high sensory properties. The majority of fermented foods can be stored at ambient temperatures as various fermentation processes boost the nutritional content or the capacity to digest food into basic simple molecules. Bioreactors of different types have become more popular in biological sciences and biotechnologies, which has reinforced the need for innovative engineering designs as well as the development of bioreactor research and technology. The use of computers to control the fermentation processes is a significant step forward in the evolution of bioreactors, which have become extremely durable and efficient. However, a fermenter is an equipment supposed to provide the optimum conditions for the growth of organisms that are employed in the fermentation process of a variety of products, such as alcoholic beverages, enzymes, antibiotics, organic acids, vaccines, and hormones. Moreover, pH, temperature, fluid velocity, stirring and mixing speed, aeration, cooling, heating, and feeding rates are all variables that must be monitored and regulated during the fermentation process.

المقدمة:

تعتبر عملية التخمر أقدم تقنية في جميع عمليات التكنولوجيا الحيوية التي عرفت منذ مئات السنين. ويُعرَّف المخمر أو المفاعل الحيوي بأنه قلب عملية التخمير وتحدث داخله العديد من التفاعلات والأنشطة. وتحتاج تكنولوجيا التخمير إلى دراسة مختلف التخصصات مثل المعالجة الحيوية والهندسة الكيميائية وعلم الأحياء الدقيقة والكيمياء الحيوية وعلم الوراثة وحتى الفيزياء والرياضيات (31) والمخمر هو الوعاء الذي يوفر ظروف بيئية متكاملة يتم من خلالها تنظم نقل الأكسجين ومنتجات التمثيل الغذائي والمغذيات من الخلية واليها. (25). يتم تعريف المفاعلات الحيوية أيضًا على أنها اجهزة مصممة للنشاط الأيضي والنمو الأمثل للكائنات الحية بمساعدة الكائنات الحية الدقيقة والإنزيمات والمحفزات الحيوية وخلايا النباتات والحيوانات (32).

المخمر أو المفاعل الحيوي عبارة عن جهاز قاعدته أسطوانية الشكل وأعلاه نصف كروي ومعظم اجزائه مصنوعة من الزجاج والفولاذ المقاوم للصدأ. الاختلاف بين نظام التحكم في المخمر الكلاسيكي والمفاعل الحيوي الحديث هو السيطرة الكاملة على كل العمليات التي تتم داخل المخمر بواسطة الكومبيوتر وخاصة عملية التغذية والتحكم بالحرارة والحموضة والتهوية وغيرها (31). تختلف المفاعلات الحيوية عن المفاعلات الكيميائية التقليدية إلى حد ما اذ انها تدعم وتسيطر على الكيانات البيولوجية من خلال توفير الظروف المثالية لنموها. ويجب أن يكون نظام التخمير قوياً ومسيطر عليه بدرجة كافية لتوفير للسيطرة على التلوث وذلك عندما يكون الكائن الحي أقل استقرارًا وأكثر حساسية للمواد الكيميائية التي تدخل في الوسط الغذائي المستعمل للإنتاج (24). تاريخ تطوير المفاعلات الحيوية بدأ منذ استخدام الكائنات الحية الدقيقة في الثقافات القديمة لتخمير الأطعمة والمشروبات وتحسينها. ومنذ اختراع التخمير المغمور وجدت المفاعلات الحيوية تطبيقات واسعة في مجالات متنوعة بما في ذلك معالجة مياه الصرف الصحي وفي قطاع حماية البيئة، وزراعة الخلايا وهندسة الأنسجة في قطاع الرعاية الصحية، وإنتاج المستحضرات الصيدلانية عالية القيمة والمواد الكيميائية التكنولوجيا الحيوية الصناعية، وحتى زراعة الطحالب لتوليد الأكسجين (27, 28, 29, 30)

يستعمل المخمر في تصنيع الكثير من المنتجات مثل البيرة والنبيذ والخل واللبن الزبادي والمخللات. ويتطلب تطور المنتجات من المستوى المختبري إلى الإنتاج على المستوى التجاري تحسين في عملية التخمر والسيطرة على منتجات الايض للكائنات المجهرية المستعملة وتوفير الركيزة الأساسية لعملية الإنتاج وبالكميات الكافية والسيطرة على درجة حرارة التخمر وكمية الاوكسجين المذاب والاملاح المعدنية والتخلص من الغازات الناتجة وكمية الكتلة الحيوية والتعقيم والمرونة والانسيابية في عملية الإنتاج وفصل المنتجات المتحصل عليها وتكسير الرغوة الناتجة وذلك لزيادة العمر الافتراضي والحفاظ على القبول العام وجودة المنتج ((25,26)

التخمر Fermantation

المعنى الأكثر شيوعًا للتخمير هو تحويل السكر إلى حامض عضوي أو كحول والذي يحدث بشكل طبيعي في العديد من الأطعمة وقد استخدم الانسان التخمر منذ العصور القديمة لتحسين كل من الخصائص الحسية والعمر المخزني للأغذية. مصطلح "التخمير" يعني استخدام الكائنات الدقيقة على نطاق مختبري وصناعي مثل البكتيريا والخميرة والفطريات لإنتاج مركبات مفيدة للإنسان (الكتلة الحيوية، والإنزيمات، منتجات الايض الأولية

والثانوية، ومنتجات متحولة بفعل الأحياء). واستعمل الانسان هذه التكنولوجيا الميكروبية لإنتاج الغذاء وحفظه لآلاف السنين. وفي كثير من الحالات يمكن أن تكون الأطعمة المخمرة كعلامة على الهوية الثقافية، وربما تجذبنا إلى نكهات ورائحة المطبخ القديم.

التخمير من وجهة نظر الكيمياء الحيوية هو عملية التمثيل الغذائي الذي يتم من خلاله تحويل المركبات العضوية إلى طاقة، دون تدخل عامل مؤكسد. كما عرف لويس باستور عملية التخمير بإيجاز على انها "الحياة بلا هواء". وعندما يتعلق الأمر بعمليات التخمير فان هناك تنوع مذهل في عمل الكائنات او الاحياء، حيث تحتوي الكائنات الحية الدقيقة المختلفة على آليات مختلفة لتحويل الجلوكوز إلى طاقة (6,5).

التنفس الخلوي هو عملية تحلل السكر بدرجة عالية ويمكن أن يسمى التخمر. ومن خلال هذا التفاعل المكون من عشر خطوات، ينقسم جزيء الجلوكوز إلى جزيئين من حامض البايروفيت. ولا يحتاج تحلل السكر إلى الأكسجين، وهو موجود في كل كائن حي على الأرض، مما يشير إلى أنه أحد المسارات الكيميائية الحيوية الأولى. ومع ذلك، فإن مصير البيروفات يتحدد بوجود أو عدم وجود الأكسجين. عند وجود الأكسجين مستقبل للإلكترون، ينتقل البايروفيت إلى مسارا التنفس الخلوي الهوائي المعروف بدورة كريبس وسلسلة نقل الإلكترون – لتوليد ATP. ومع ذلك، وفي حالة عدم وجود الأكسجين، ستدخل جزيئات البايروفيت في سلسلة التخمير. طورت بعض الكائنات الحية الدقيقة مستوى من المرونة الأيضية، مما يسمح لها بالتبديل بين التنفس الهوائي والتخمير. لذلك يتم تصنيف هذه الكائنات الحية الدقيقة على أنها لا هوائية اختيارية. ومع ذلك، فإن بعض الكائنات الحية الدقيقة الأخرى لا تنمو بوجود الأوكسجين، ويمكن أن تنمو فقط في التنفس اللاهوائي. وفي هذه الحالة تسمى الكائنات الحية الدقيقة اللاهوائية الاجبارية. لكل من اللاهوائية الاختيارية واللاهوائية الاجبارية، ويعمل التخمر على إعادة تدوير نواتج عملية تحلل السكر، مما يضمن استمرار الخلايا في إنتاج ATP (7).

لمحة تاريخية

التخمر هو تحويل وحفظ الطعام عن طريق البكتيريا. في حين أن عملية التخمير كممارسة طهي تعود إلى الحضارة الإنسانية القديمة، فقد استغرق الأمر وقتًا طويلاً قبل أن يتم فهم المبادئ العلمية له (1). ومع ذلك، فقد أظهرت دراسات علم الاثار أن تقنيات التخمير كانت من اساسيات الحضارات القديمة، وهناك أدلة على نطاق واسع على أن مفهوم الأوساط الزرعية "البادئة" كان موضع تقدير واهتمام لديهم.

قوارير دراسة التخمير

استخدم لويس باستور القوارير ذات عنق البجعة لإثبات أن الجسيمات الحية الموجودة طبيعيا في الهواء كانت مصدرًا للتلوث بدلاً من نظرية التوليد التلقائي التي كانت موجودة سابقًا، وواصل باستور دراسة التخمير واكتشف أن الخميرة تحول السكريات إلى كحول من خلال عملية اطلق عليها بالتخمر، وأن التأثير "الحامضي" لعصير

البنجر كان نتيجة التلوث بأنواع بكتيرية قادرة على تحويل الإيثانول إلى حمض خليك. وللتخلص من الملوثات البكتيرية المحتملة وللمحافظة على الايثانول وعدم تحوله الى حامض الخليك، اخترع باستير تقنية رائدة حيث يتم فيها تسخين العينات إلى درجة حرارة محددة لفترة زمنية محددة. هذه العملية، المعروفة بالبسترة، لا تزال مستخدمة على نطاق واسع حتى يومنا هذا(2) .

وضع باستور المبادئ الرئيسية وحجر الأساس للعمل في التخمير. كذلك عام 1877 وضح الكيميائي الألماني موريتز تروب أن التخمير هو عبارة عن سلسلة من الأحداث الكيميائية يتم خلالها نقل الأكسجين من جزء سكري إلى جزء سكري آخر، مما يؤدي إلى انتاج مركب عالي الاكسدة هو (CO_2) ومنتج اخر عالي الاختزال هو (الكحول). كذلك، اثبت Traube قبل كل العاملين في هذا المجال اثبت أن كل حدث كيميائي في سلسلة عمليات التخمير يتم تحفيزه بواسطة مادة شبيهة بالبروتين يطلق عليها (الإنزيمات)، مما يوفر رؤى رائعة في الكيمياء الخلوية (3). وبعد عشرين عامًا أظهر الكيميائي الألماني إدوارد بوخنر، أن السكروز يمكن تخميره إلى كحول عن طريق مستخلصات الخميرة، وصاغ مصطلح "zymase " لوصف المركب الخلوي الذي يحفز هذا التحويل. كان عمل Buchner يستحق جائزة نوبل في الكيمياء عام 1907، وقام بتعديل نموذج باستور للتأكيد على فكرة أن التخمير هو وظيفة حية، ولكن ليس بالضرورة تقسيم الخلايا. علاوة على ذلك، أظهر Buchner أن التخمير هو سلسلة من الأحداث، كل خطوة يتم تحفيزها بواسطة إنزيم مختلف ومن خلال عملهم على عملية التخمير، مهد Pasteur، Traube، Buchner، وغيرهم الكثير مهدوا الطريق لدراسة كيمياء الحياة، والمعروفة باسم الكيمياء الحيوية، مما أدى إلى فتح هذا المجال العلمي بأكمله (4).

History	description
7000 BC	An ancient Chinese civilization made an alcoholic drink similar to beer called (kui), made from rice, honey, grapes and hawthorn.
4300 BC	A recipe for making beer found on clay tablets dating back to the ancient Babylonian civilization, it is interesting that most of the beer makers were women, and it was a field of work that enjoyed a lot of respect and was determined by the protection of God
32000-3500 BC	The ancient Egyptians used molds to ferment bread and make beer, which was the most common ingredient in their meals. The Egyptians also made fermented dairy products, such as cheese, yogurt, and butter.
2000 BC	The first texts of how to pickle cucumbers were found in the Middle East
1500	The ancient Babylonians developed techniques for preserving sausages
300	Fermentation of vegetables was widespread in ancient China
200	Brewing tea is believed to have appeared in China. The name (kombucha) came from Japan later in 400 AD
500-1000 AD	Extensive development of the legume fermentation process. Examples of finished products are miso, dosa and sake

Ross et al. (2002)5, Prajapati and Nair (2003)6

المخمر (المفاعل الحيوي)

عبارة عن وعاء مغلق مرتب بطريقة يمكن السيطرة على التهوية، والتقليب، ودرجة الحرارة، والتحكم في الحموضة، ومصدر للتصريف وفصل منتجات عملية التخمر والتخلص من الفائض من مزرعة الكائنات الحية الدقيقة الموجودة مع منتجاتها. يستخدم المخمر للإنتاج التجاري في صناعات التخمير وهو جهاز تستخدم فيه الخلايا الحية أو الإنزيمات واوساط ذات القيمة المنخفضة لتوليد منتج ذي قيمة أعلى. وتستخدم المخمرات على نطاق واسع في معاملة الأغذية والتخمير ومعالجة النفايات وما إلى ذلك (8).

تاريخ المخمرات:

استخدم (9) عام (1944) أول مخمر كبير الحجم (أكثر من 20 لترًا) لإنتاج الخميرة. ولكن خلال الحرب العالمية الأولى طور عالم بريطاني يُدعى تشين إيزمان (1914–1918) مخمرًا لإنتاج الأسيتون. وبسبب معرفة أهمية وتأثير ظروف التعقيم على عملية الانتاج، فقد تم اتخاذ خطوات أساسية في تصميم وبناء المخمرات والأنابيب والوصلات والصمامات وتصنيعها والتي يمكن من خلالها تحقيق ظروف معقمة خلال الانتاج. وتم استخدام المخمرات الهوائية لأول مرة على نطاق واسع في وسط أوروبا في عام 1930 لإنتاج الخميرة المضغوطة. ويتكون المخمر من خزان أسطواني كبير مع مدخل للهواء في القاعدة عبر شبكة من الأنابيب المثقبة. وفي التعديلات اللاحقة، تم استخدام الخلاطات الميكانيكية لزيادة معدل الخلط وتفتيت وتشتيت فقاعات الهواء. أدت هذه العملية إلى توفير الهواء المذاب المطلوب، ووجود الحواجز على جدران المخمر لتمنع تكوين دوامة في الوسط السائل. في عام 1934، حصل (Strauch and Schmidt) على براءة اختراع لنظام تم فيه إدخال أنابيب التهوية بالماء والبخار للتنظيف والتعقيم.

ان استخدام تقنية الاستزراع المغمور لإنتاج البنسلين بظروف معقمة وتهوية جيدة وتقليب مستمر كان عاملاً مهمًا للغاية في المساعدة في تطوير أجهزة تخمير مصممة بعناية لهذا الغرض وفي عام 1943 عندما قررت الحكومة البريطانية أن التنمية السطحية غير كافية للإنتاج، لم يكن أي من مصانع التخمير مناسبًا على الفور للتخمير العميق. وتم إنشاء أول مخمر تجريبي في الهند في (Hindustan Antibiotic Ltd.، Pimpri، Pune) في عام 1950.

تصميم المخمرات Design of Fermen

تتعامل جميع المفاعلات الحيوية مع أنظمة غير متجانسة على سبيل المثال، سائل، غاز، صلب. لذلك يتم استخدام مبادئ الهندسة الكيميائية لتصميم وتشغيل المفاعلات الحيوية. ويجب أن يتوفر بالمفاعل الحيوي ما يلي:

(1) التحريك (خلط الخلايا والوسط).

(2) التهوية (المخمرات الهوائية) لتجهيز O_2،

(3) تنظيم العوامل مثل درجة الحرارة ودرجة الحموضة والضغط والتهوية وتجهيز المغذيات ومستوى السائل وما إلى ذلك،

(4) التعقيم والحفاظ على المعقم،

(5) سحب الخلايا / الوسط (لاستمرار التخمر).

عادة ما يتم دمج المخمرات الحديثة مع أجهزة الكمبيوتر لمراقبة العمليات بكفاءة، والحصول على البيانات الكاملة، وما إلى ذلك. بشكل عام، يُترك 20–25٪ من حجم المخمر شاغرًا "مساحة رأس" للسماح بعملية الرش وتكسير الرغوة والتهوية. ويختلف تصميم المخمرات اختلافًا كبيرًا اعتمادًا على النوع والغرض من عملية التخمر. ويتم تصميم المفاعلات الحيوية بحيث توفر أفضل نمو ممكن وتخليق حيوي للمواد المرغوبة المهمة صناعيًا وتسمح بسهولة التحكم بجميع العمليات (10,11).

يمكن وصف عمليات التخمير الصناعية الحديثة المستخدمة في صناعة الأغذية والمشروبات وفقًا لوجهات نظر مختلفة منها:

1. أساس عمليات التخمر يعتمد على طرق تجهيز المواد الى المفاعلات الحيوية، وتصنف استنادا الى طريقة تجهيز المخمر بالمغذيات الى (دفعات، شبه المستمر، المستمر).
2. استنادا الى طبيعة المادة المنتجة فتقسم الى (خلايا حرة أو مرتبطة / إنزيمات).
3. وفقا الى الحالة المميزة لمادة التخمر في النظام تقسم الى (تخمرات السوائل المغمورة أو تخمرات الحالة الصلبة).
4. توصف حسب استعمال سلالة بكتيرية واحدة او تنمية سلالات بكتيرية مختلفة مختلطة.
5. حسب طريقة خلط مواد التخمر في المفاعل الحيوي (ميكانيكي، هوائي، هيدروليكي).
6. اما اذا كان الوصف اعتمادا على توافر الأكسجين فهي (الهوائية، المحبة لكميات قليلة من الهواء، والعمليات اللاهوائية (12)

ان نجاح عمل المفاعل الحيوي أو عملية التخمير التي يراد تنفيذها في أي تجربة يتضمن النظر في مزايا وعيوب كل اعدادات وظروف عملية التخمر. وهذا يشمل فحص خصائص وأجزاء المخمر وتوافر المواد الخام الأولية، وحساب وتوفير تكاليف التشغيل الضرورية والصيانة وتوفير القوى العاملة المختصة وكذلك إنتاج المواد المرغوبة وإمكانية استثمارها (13).

يحتاج كل نظام تخمير إلى العمل بكفاءة عالية وخصوصا في التخمرات المنتشرة على نطاق واسع، ويظل المعيار الرئيسي لاختيار عملية التخمير هو حساب الحد الأدنى للتكاليف ورأس المال المطلوب لكل مرحلة من مراحل الانتاج. وفي نفس الوقت، التصميم على التشغيل الفعال بأعلى طاقة إنتاجية للمخمرات (12).

أنواع عمليات التخمير TYPES OF FERMENTATION PROCESSES

الزراعة مغمورة Submerged Cultivation

الزراعة المغمورة للخلايا الميكروبية في المفاعلات الحيوية تتضمن السيطرة الكاملة على ظروف الإنتاج للمنتجات النهائية عالية الجودة وتحقيق الإنتاجية المثلى للمخمر. ويتم استخدام المفاعلات الحيوية الصناعية التي يتم تشغيلها على نظام الدفعات أو شبه المستمر أو المستمر لتنمية أنواع مختلفة من الكائنات الحية الدقيقة التي تنتج مجموعة واسعة من المنتجات. سنتطرق الى الأساليب المختلفة للزراعة المغمورة للكائنات الحية الدقيقة في المفاعلات الحيوية بإيجاز وتسليط الضوء على الميزات والفوائد والعيوب النموذجية لكل منها ويتم توضيح التطبيقات ذات الصلة للزراعة بنظام الدفعات أو شبه المستمر أو المستمر للكائنات الدقيقة في الاوساط السائلة المستخدمة في إنتاج أنواع مختلفة من منتجات الصناعات الغذائية (14).

زراعة دفعة Batch Cultivation

الزراعة بطريقة الدفعات تمثل نظامًا مغلقًا يتم فيه إضافة الوسط والمغذيات واللقاح إلى المفاعل الحيوي وفي الغالب تحت ظروف معقمة في بداية التخمر أي أن حجم وسط الاستزراع في المفاعل الحيوي ثابت نظريًا أثناء الزراعة (عمليًا ، تحدث الانحرافات الصغيرة في حجم المزرعة بسبب انخفاض معدل تغذية المحاليل الحمضية / القاعدية للحفاظ على الرقم الهيدروجيني عند المستوى المطلوب وعن طريق أخذ العينات أو إدخال الهواء / الغاز في الوسط لكن بشكل عام ، يتم تجاهل هذه التغييرات عادةً نظرًا لقيمتها الصغيرة بالنسبة إلى إجمالي حجم العمل للمفاعل الحيوي). عادةً، في بداية الزراعة بطريقة الدفعات، يتم تلقيح المفاعل او المخمر المملوء بوسط التخمر الحاوي على جميع العناصر الغذائية بلقاح يحوي عدد معروف من الخلايا الحية وبظروف معقمة. (15),(16)

تبدأ الخلايا بعد التلقيح بالنمو حسب منحنى النمو الكلاسيكي الذي وصفه (17)، والذي ينقسم إلى أربع مراحل رئيسية هي

- مرحلة التأقلم هي مرحلة "غير فعالة" من الاستزراع (على الرغم من أن الخلايا نشطة من الناحية الأيضية، الا إنها تكيف أجهزتها الإنزيمية مع البيئة الجديدة ولم يلاحظ أي زيادات كبيرة في تركيز الكتلة الحيوية، أو استهلاك الوسط أو تخليق المنتج) ويستحسن تقصير هذا الطور قدر الإمكان. ويتأثر طول مرحلة التأقلم بشكل أساسي بتركيز الخلايا في اللقاح وحالتها الفسيولوجية ومكونات وسط التلقيح والانتاج بشكل أساسي (مصدر الكربون والطاقة ودرجة الحموضة ودرجة الحرارة وحجم اللقاح).
- المرحلة الأسية (النمو اللوغاريتمي) تتميز بالتكاثر السريع للخلايا (تركيز الكتلة الحيوية هو دالة أسية للوقت)، ومعدل نمو محدد ثابت، والذي يساوي الحد الأقصى لمعدل النمو المحدد للوسط في ظل ظروف عدم وجود قيود على النمو. معدل النمو ليس محدودًا لأن جميع العناصر الغذائية موجودة بكمية كبيرة، ولا يوجد تثبيطًا للنمو)،

وفي نهاية الطور اللوغاريتمي يتم استهلاك سريع لمصدر الكربون والطاقة وارتفاع معدل إنتاج منتجات الايض الأولية ونفاذ العناصر الغذائية والذي يؤدي إلى انخفاض تدريجي في معدل النمو المحدد والانتقال إلى المرحلة الثانية،

- تتميز المرحلة الثانية بركود النمو واستهلاك المتبقي من الكربون والطاقة، وفي هذه المرحلة يتم تكوين وطرح منتجات الايض الثانوية. يتم تشغيل معظم المفاعلات الحيوية الصناعية (المخمرات) في وضع الدُفعات نظرًا لبساطة هذه العملية. تشمل عملية الدُفعات عدد من الخطوات هي (تركيب وسط الانتاج وملء المفاعل الحيوي والتعقيم في مكانه والتلقيح والزراعة وجمع المنتج وتنظيف المخمرات (أنظمة التنظيف المكاني)). لتحقيق الكفاءة العالية في انتاج كل منتجات الايض الثانوية وبطريقة الدفعات، يجب تقليل جميع الخطوات غير المنتجة (جميع الخطوات المذكورة أعلاه باستثناء الزراعة)، وتحقيق معدل عالٍ من تخليق المنتج وتحسين الإنتاجية وزيادة عائد المنتج النهائي. أي ان عملية الانتاج بطريقة الدفعات تؤثر بنوع المنتج النهائي والذي يعد امتدادًا للنمو اللوغاريتمي سواء لإنتاج الكتلة الحيوية (خمائر الخبز، الكتلة الحيوية للتغذية) أو منتجات الايض الأولية (الإيثانول، حامض الخليك، حامض الستريك، أو حامض اللاكتيك) بينما في حالة إنتاج منتجات الايض الثانوي يتم تقصير مرحلة النمو اللوغاريتمي (عن طريق الحد من عنصر غذائي واحد، وعادة ما يكون مصدر النيتروجين) ويتم إطالة مرحلة الثبات لتحقيق أقصى إنتاجية للمنتج. ويمكن استخدامها لإنتاج المشروبات الكحولية (البيرة والنبيذ والمشروبات الروحية المقطرة مثل الويسكي والبراندي والروم وغيرها) والأحماض العضوية المستخدمة في الصناعات الغذائية إما كمحمضات أو كمواد حافظة مثل حامض الخليك (خل) او الأحماض اللبنية والأحماض الأمينية المستخدمة كمُحسِّن للنكهة مثل الغلوتامات أحادية الصوديوم أو المُحليات مثل الأسبارتات.

الطريقة شبه المستمرة Fed–Batch Cultivation

تمثل طريقة الدُفعات الغذائية نظامًا شبه مفتوح يتم فيه إضافة عنصر أو أكثر من المغذيات بطريقة معقمة وتدريجية إلى المفاعل الحيوي مع الاحتفاظ بالمنتج بالداخل؛ أي أن حجم الوسط في المفاعل الحيوي يزداد خلال هذا الوقت. والمزايا الرئيسية للدُفعة الغذائية هي (16):

(أ) إمكانية إطالة فترة تخليق المنتج.

(ب) القدرة على تحقيق كثافة خلايا أعلى وبالتالي زيادة كمية المنتج، والتي عادةً يتناسب فيها تركيز الكتلة الحيوية مع تركيز المنتج.

(ج) القدرة على تعزيز الغلة أو الإنتاجية عن طريق الإضافة المتسلسلة المضبوطة للمغذيات.

يستخدم نظام الدفعات بشكل مفيد في بعض العمليات لاسباب منها:

1- من المتوقع تثبيط الوسط أو حدوث القمع الكبحي؛ يمكن التغلب على هذه المشكلة عن طريق استخدام تركيز "آمن" من الوسط في وضع الدُفعات متبوعًا بالتغذية بالمتبقي من الوسط في عملية التغذية على دفعات.

2- تأثير Crabtree (قمع إنزيمات الخميرة التنفسية بتركيزات عالية من الجلوكوز) وهذا ما توقعه او توصل اليه (دي ديكن، 1966) عن طريق التغذية التدريجية للركيزة او الوسط، يمكن التخلص من إنتاج الإيثانول بواسطة الخمائر عن طريق استعمال الظروف الهوائية.

3- تكون كثافة الخلايا العالية مطلوبة ويمكن الحفاظ على معدل نمو مرتفع وثابت عن طريق التغذية الأسية للوسط؟

4- يجب تحقيق معدل إنتاج مرتفع ويمكن تنظيم التمثيل الغذائي الخلوي عن طريق الاضافة المتسلسلة الدقيقة للمغذيات.

5- يُتوقع انتاج لزوجة عالية في وسط الاستزراع (على سبيل المثال، إنتاج ديكستران أو زانثان)؛ ويمكن أن يتغلب على مشاكل الخلط ونقل الأكسجين بتخفيف الوسيط تدريجيا.

هناك العديد من الطرق لإضافة الوسط إلى المفاعل الحيوي (إما كمحلول مركز لمصدر وحيد للكربون والطاقة أو كوسط يحتوي على الكربون بالإضافة إلى العناصر الغذائية الأخرى) يمكن أن يعزز الاختيار الصحيح لمعدل التغذية بالمغذيات الى المخمر من كفائة المخمر وإنتاج المادة المرغوبة, معدل النمو الخلوي وفسيولوجيا الخلية ومعدل تكوين المنتج يمكن ان يتاثر بأداء ومكونات الوسط الزرعي إلى حد كبير. ومن الستراتيجيات الشائعة في تغذية المخمرات هي:

1- التغذية المتقطعة، التي يتم تحقيقها عن طريق الدفع المنتظم أو غير المنتظم للوسط

2- تركيز الأكسجين المذاب ودرجة الحموضة وثاني أكسيد الكربون ومعدل الانتاج وتركيز الكتلة الحيوية من مستلزمات عمليات التخمير شبه المستمرة الاعتيادية للأغذية لإنتاج خميرة الخبز والإيثانول النقي على نطاق واسع، والذي يتم استخدامه أيضًا في المشروبات الكحولية التي يتم إنتاجها عن طريق خلط المكونات مثل المشروبات الكحولية أو العصائر، وإنتاج الخل.

3- خميرة الخبز (Saccharomyces cerevisiae) والتي يتم توزيعها على شكل مضغوط ، ومجفف ،

4- الكتلة الحيوية الفورية تقدر قيمتها بقدرتها على تخمير العجين. إنتاج الخميرة هو التقنية الوحيدة التي يتم فيها استقلاب الجهاز التنفسي لـ S. cerevisiae مما يؤدي إلى إنتاجية عالية من الكتلة الحيوية

5- بسبب تأثير كرابتري، أي تكوين الإيثانول تحت الظروف الهوائية في وجود ركيزة زائدة البديل الوحيد لإنتاج خميرة الخباز. العقبة الرئيسية في إنتاج الخميرة على نطاق واسع في الخباز هي التحكم في تدفق متوسط المغذيات، والذي كان يعتمد تقليديًا على البيانات التجريبية. حاليًا، تم تطوير العديد من طرق التغذية التي تستخدم أساليب مختلفة، على سبيل المثال، ملف تعريف التغذية اللوجستية (20)

المستمرة Continuous Cultivation

تمثل الطريقة المستمرة نظامًا مفتوحًا يتم فيه إضافة العناصر الغذائية بطريقة معقمة ومستمرة إلى المفاعل الحيوي، ويتم إزالة المنتج (الذي يحتوي على الخلايا والمواد الناتجة) في نفس الوقت، أي حجم الوسط هو ثابت بسبب معدل التغذية الثابت. في كثير من الأحيان، يتم استخدام الطريقة المستمرة كمرادف لـ chemostat، ويمثلها معدل نمو محدد ثابت للخلايا، والذي يساوي معدل التخفيف ويتم التحكم فيه من خلال توفر المغذيات المحددة، على الرغم من وجود أنواع من العمليات المستمرة الا انه يتم تشغيل عدد قليل فقط من أنظمة إنتاج الغذاء أو الأعلاف التي تستخدمها الكائنات الحية الدقيقة، حيث يتم تعريف التخمير المستمر على أنه عملية تتم في مفاعل حيوي واحد أو أكثر بمعدل تخفيف ثابت (21)

تصميم وتشغيل المخمرات

يتراوح حجم المخمرات من 1–2 لتر من المخمرات المخبرية إلى 500000 لتر وفي بعض الأحيان، تم استخدام مخمرات تصل إلى 1.2 مليون لتر. يعتمد حجم المخمر المستخدم على العملية وكيفية تشغيلها. وهنالك دراسات تبين حجم المخمر (لتر) وأحجام المنتجات الصناعية لبعض عمليات التخمر الميكروبية الشائعة ويمكن تقسيم المخمرات الصناعية إلى فئتين رئيسيتين، اللاهوائية والهوائية. تتطلب أجهزة التخمير اللاهوائية القليل من المعدات الخاصة باستثناء إزالة الحرارة المتولدة أثناء عملية التخمير، في حين تتطلب أجهزة التخمير الهوائية معدات أكثر تفصيلاً لضمان الخلط والتهوية المناسبة (22). التصميم الجيد للمفاعلات الحيوية يجب أن يعمل على تحسين الإنتاجية، والتحقق من صحة المعلومات من أجل الحصول على منتجات عالية الجودة وبطريقة فعالة ومناسبة من حيث التكلفة [23]. لقد كان تصميم المفاعلات الحيوية مهمة هندسية معقدة نسبيًا وأجريت عليها دراسات في الهندسة الكيميائية الحيوية. الكائنات الحية الدقيقة في المفاعلات الحيوية تؤدي وظيفتها في الظروف المثلى لعمل هذه الكائنات وبوجود بعض الشوائب الضئيلة. ومع ذلك، فقد يتأثر نمو الكائنات الحية الدقيقة وإنتاجها لمنتجاتها المرغوبة وبشكل نموذجي بالظروف البيئية بما في ذلك تركيز المغذيات ودرجة الحرارة وتركيز الغازات المذابة (خاصة الأكسجين للتخمير الهوائي) ودرجة الحموضة داخل المفاعل الحيوي. تستخدم اجهزة التبريد أو الملفات أو كليهما للحفاظ على درجة حرارة وسط التخمير ويمكن أيضًا استخدام المبادلات الحرارية الخارجية في حالة التخمير الطارد للحرارة. يعتمد تصميم المفاعل الحيوي ووضع التشغيل على الظروف المثلى المطلوبة للإنتاج، وقدرة الكائنات الحية الدقيقة على انتاج المادة المرغوبة، وجودة المنتج، وحجم الإنتاج. ويجب أن يؤثر المفاعل الحيوي الفعال في التفاعل البيولوجي ويمنع التلوث [23].

في اجهزة التخمير التي تعمل بنظام الدُفعة الغذائية، تتم إضافة العناصر الغذائية بشكل مستمر أو تضاف دفعة واحدة في بداية التخمير واعتمادًا على عملية التخمير، حيث يتم تعديل الرقم الهيدروجيني للوسط وإضافة الغازات المتفاعلة وخاصة الأكسجين في أجهزة التخمير الهوائية، ويجب إضافة الهواء أو الأكسجين النقي باستمرار،

وبالتالي زيادة نسبة الاوكسجين الذائب بالماء. وتساعد الفقاعات المتصاعدة في المخمر في خلط وسط التخمير والتخلص من ثاني أكسيد الكربون في التخمر الهوائي، ويساعد نقل الأوكسجين في خلط العناصر الغذائية والحفاظ على التخمير متجانسًا. وتعتبر صفات المفاعلات الحيوية مثل التعقيم، وأجهزة التحكم في العمليات، والبناء والمقاييس البسيطة، وتقنيات التنظيم والخلط، والتوافق مع العمليات الاساسية، وإجراءات منع الرغوة، وما إلى ذلك، عوامل أساسية للوفاء بمتطلبات التصميم [24]. يجب أن يكون تصميم المخمر بطريقة تجعله يوفر ظروفًا معقمة مناسبة يمكن بناؤها داخله، وتهوية وتحريك مناسبين، وحصاد مناسب للمنتجات، وتصريف مناسب. هناك عوامل أخرى يجب وضعها في الاعتبار قبل تصميم المخمر. نظرًا لأن معظم عمليات التخمير الصناعية هي هوائية، فإن بناء مخمر هوائي نموذجي (الشكل1) هو كما يلي

1. جسم المخمر

يصمم جسم المخمر بطريقة تستخدم أقل إجراءات العمل والصيانة ويمكن تنفيذ عملية التخمر بطريقة معقمة في ظروف خاضعة للرقابة. السطح الداخلي للمخمر أملس ومصنوع من مادة الستانلس ستيل. هناك نوعان من المخمرات في النوع الأول يفضل استخدام الزجاج اذ يسهل منه مشاهدة عملية التخمر والسيطرة عليها وخاصة في المخمرات الصغيرة المستعملة في المختبرات لغرض اجراء التجارب، والنوع الثاني يستخدم الفولاذ المقاوم للصدأ للأغراض الصناعة. ومن السهل فحص التفاعل داخل المخمر. ويتم تعقيم الاجزاء بالأوتوكليف. هذه المخمرات المختبرية صغيرة جدًا يبلغ قطرها حوالي 60 سم. يستخدم الفولاذ المقاوم للصدأ في الغالب للتخمير على نطاق واسع. هذه الأوعية لديها القدرة على مقاومة الضغط والتآكل. يتم التعقيم موقعيا[25].

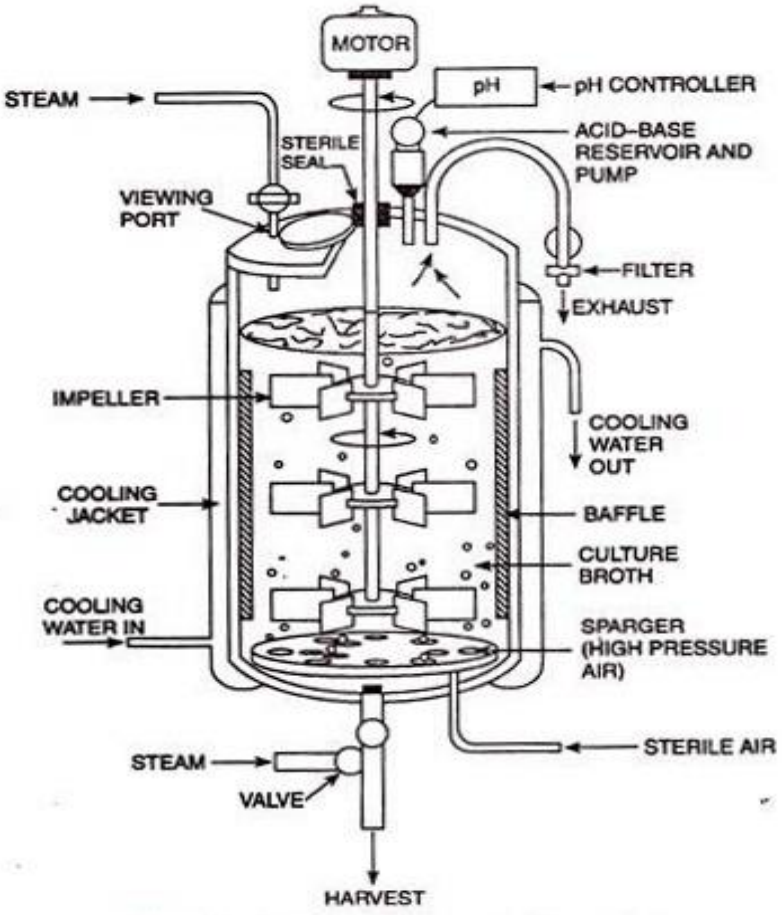

FIG. 39.1. An industrial aerobic fermentor (internal view)

2. منظومة التسخين والتبريد

تنتج الحرارة في المخمر بسبب نشاط الاحياء المجهرية والإثارة. يتم الحفاظ على درجة الحرارة في المخمر عن طريق إضافة أو إزالة الحرارة من النظام. يتم استخدام اجهزة التحكم بالحرارة أو الملفات الداخلية لتوفير الحرارة بينما يتم استخدام سترات السيليكون لإزالة الحرارة الزائدة. تحتوي على حصيرة سيليكون مزدوجة مع أسلاك تسخين محصورة بين الحصائر. إذا تم تجاوز الحجم الذي أدى إلى تغطية السطح بالسترة، فإن إزالة الحرارة تتم بواسطة الملفات الداخلية، ويجب تدوير الماء البارد للحفاظ على درجة الحرارة وبصورة دقيقة[26]

3. حواجز

تمنع الحواجز تكوين الدوامات لتوسيع قدرة التهوية وتتكون من حواجز معدنية متصلة شعاعياً بالجدار. أدت هذه الحواجز إلى تقليل نمو الميكروبات على جوانب المخمر

4. الخلاط

هو جهاز ضروري لتحريك مكونات المخمر والتحريك يحقق شيئين:

(1) يمزج فقاعات الغاز مع مكونات وسط الزراعة السائلة

(2) يمزج الخلايا الميكروبية مع مكونات الوسط السائل. وبهذه الطريقة يضمن التحريك وصول الخلايا الميكروبية إلى العناصر الغذائية بشكل موحد.

يعتمد حجم وموقع الخلاط في المخمر على حجم المخمر ففي المخمرات الطويلة، هناك حاجة إلى أكثر من دافع واحد إذا كان من الضروري الحصول على خلط وتهوية كافيين. من الناحية المثالية، يجب أن تكون الخلاط 3/1 من قطر المخمرات المثبتة فوق قاعدة المخمر.

تستخدم الخلاطات لتحريك الوسط وتعليق للخلايا الميكروبية في الوسط المغذي المتجانس عن طريق التحريك. تقوم الدفاعات بمزج السوائل والجزيئات الصلبة ومراحل الغاز في وسط التخمر. الدفاعات المتغيرة تستخدم في المخمرات ويتم تصنيفها على النحو التالي. توربينات قرصية: تحتوي على قرص به سلسلة ريش مستطيلة الشكل. تقوم بتوفير الهواء بضربه الى الأسفل وإزاحة الهواء نحو الدوارات لتكسير فقاعات الهواء الكبيرة إلى فقاعات أصغر يسهل اذابتها في وسط الإنتاج [26].

5. نظام التهوية:

نظام التهوية هو أحد أهم أجزاء المخمر ذي الكثافة الميكروبية العالية وان نظام التهوية المناسب يوفر الأوكسجين الكافي لعملية التمثيل الغذائي في المخمر والذي تحتاجه الكائنات الحية لإتمام عملها لذلك من الضروري اتخاذ احتياطات مفصلة باستخدام نظام تهوية جيد لضمان التهوية المناسبة وتوافر الأكسجين في جميع أنحاء الوسط. يتم استخدام ثلاثة أنواع من نظم التهوية.

رشاش مسامي: يتكون من السيراميك أو الزجاج الملبد ويستخدم في وعاء غير مهتاج على نطاق المختبر.

رشاش الفوهة: مكون من أنبوب واحد مفتوح أو مفتوح جزئيًا. يتم استخدام هذا النوع من الرشاش لأنه يوفر ضغطًا منخفض.

تكسير الفقاعات: يدخل الهواء عن طريق عمود مجوف ويطلق من فتحات أسفل قاعدة العمود الرئيسي للتهوية تحت الخلاط والذي عندما يتم تشغيله بعدد من الدورات في الدقيقة، فإنه يوفر تهوية جيدة في وعاء التخمر [26]. ومع ذلك، يتم استخدام جهازي تهوية منفصلين لضمان التهوية المناسبة في التخمير. عادة ما يكون الرشاش عبارة عن سلسلة من الثقوب في حلقة معدنية أو فوهة يمر من خلالها الهواء المعقم بالفلتر (أو الهواء الغني بالأكسجين) إلى المخمر تحت ضغط عالٍ. يدخل الهواء إلى المخمر على شكل سلسلة من الفقاعات الصغيرة التي تذوب في وسط المزرعة السائل [26].

6. منافذ التغذية

منافذ التغذية عبارة عن أنابيب مصنوعة من السيليكون. يتم استخدامها لإضافة العناصر الغذائية والاحماض / القواعد في المخمر. يتم إجراء التعقيم في الموقع قبل إزالة المنتجات أو إضافتها [26].

7. التحكم بالرغوة

هو أحد الأجزاء المهمة في المخمر حيث يجب تقليل مستوى الرغوة في الوعاء لتجنب التلوث. يتم التحكم في الرغوة بواسطة وحدتين، وحدة استشعار وتحكم بالرغوة ووحدة تكسير الرغوة في المخمر، يتم إدخال حساس من خلال الجزء العلوي ويتم ضبطه على مستوى مميز فوق سطح المرق. عندما يرتفع مستوى الرغوة ويلامس طرف

المجس، سيتم تمرير تيار عبر الدائرة. سيؤدي هذا التيار إلى تنشيط المضخة وسيتم إطلاق مضاد الرغوة على الفور لتكسير الرغوة [26].

8. **الحواجز:**

عادة ما يتم وضع الحواجز في المخمرات من جميع الأحجام لمنع تكوين الدوامة وتحسين كفاءة التهوية. وهي عبارة عن شرائط معدنية يبلغ قطرها حوالي عُشر قطر المخمرات وترتبط شعاعيًا بالجدران [26].

9. الصمامات

تستخدم الصمامات في المخمر للتحكم في حركة السائل في الوعاء. هناك حوالي خمسة أنواع من الصمامات المستخدمة، وهي صمام الكرة الأرضية، وصمام الفراشة، والصمام الكروي، والصمام الحاجز. الصمامات الكروية مناسبة للأغراض العامة لكنها لا تنظم التدفق. صمامات الفراشة ليست مناسبة لظروف التعقيم وتستخدم للأنابيب ذات القطر الكبير التي تعمل تحت ضغط منخفض. الصمامات الكروية مناسبة لحالة التعقيم [26].

10. صمامات الأمان

صمام الأمان مدمج في تصميم الهواء والأنابيب ليعمل تحت الضغط. بمساعدة هذه الصمامات، يتم الحفاظ على الضغط ضمن حدود آمنة [26].

11. أجهزة التحكم في العوامل البيئية:

في أي تخمر بكتيري، من الضروري ليس فقط قياس النمو وتكوين المنتج ولكن أيضًا للتحكم في العملية عن طريق التحكم بالمؤشرات البيئية أثناء تقدم عملية التخمر. لهذا الغرض، يتم استخدام أجهزة مختلفة في المخمر. تشمل العوامل البيئية التي يتم التحكم فيها بشكل مستمر درجة الحرارة وتركيز الأكسجين ودرجة الحموضة وكتلة الخلايا ومستويات العناصر الغذائية الرئيسية وتركيز المنتج [26].

المصادر

1- Abbott, M.S.; Harvey, A.P.; Perez, G.V.; and Theodorou, M.K. (**2013)** Biological processing in oscillatory baffled reactors: operation, advantages and potential. *Interface focus*.3.1, 20120036.
2- Biddy, M.J., Scarlata, C., and Kinchin, C. (2016) Chemicals from Biomass: A market
assessment of bioproducts with Near-Term Potential. National Renewable Energy Laboratory
3- Biotech Articles, https://www.biotecharticles.com/Biotech-Research-Article/Design-and-Operational-Key-Factors-of-Bioreactor-1558.html, 2012.
4- Bodduman, Information creates wealth, https://www.boddunan.com/articles/ education/42-general/1040-construction-of-a-fermenter.html, 2016

5- Bohley, P. and Fröhlich, K. (1997) A prize-winning discovery of 1896: buchner provides evidence of cell-free fermentation, New Beer in an Old Bottle: Eduard Buchner and the Growth of Biochemical Knowledge, pp. 43–50, ed.
6- Borowiak, D., Mis´kiewitz, T., Miszczak, W., Cibis, E., and Krzywonos, M. (2012) A straightforward logistic method for feeding a fed-batch baker's yeast culture. *Biochem. Eng. J.* 60:36–43
7- Datta, R. and Henry, M. (2006) Lactic acid: recent advances in products, processes and
technologies-a review. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 81, 1119–1129,
8- *Fermentation Microbiology and Biotechnology*Third Edition. *(2011)* illustrated, revised ed. CRC Press;
9- Granchi, C. Bertini, S. Macchia M. and Minutolo, F. (2010) Bentham Science Publishers Ltd. Inhibitors of Lactate Dehydrogenase Isoforms and their Therapeutic Potentials, Current Medicinal Chemistry, 672-697.
10- Ingledew, W.M.M. and Lin, Y.-H. (2011) Ethanol from starch-based feedstocks. In *Comprehensive Biotechnology (2nd ed.),* eds. M. Moo-Young, M. Butler, and C. Webb et al., 37–49. Amsterdam: Elsevier B.V.
11- Inui M, Martello G. and Piccolo, S. (2010) MicroRNA control of signal transduction. Nat Rev Mol Cell Biol 11:252-263.
12- Inui, M., Vertes, A. A. and Yukawa, H. (2010) Advanced fermentation technologies, in:Biomass to biofuels, (Eds.),311–330. Oxford, UK: Blackwell Publishing, Ltd.
13- Monod, J. 1949. The growth of bacterial cultures. *Annu. Rev. Microbiol.* 3: 371–394.
14- Pelczar, M. J; Chan, E.C.S. and Krieg, N. R. (2010). *Microbiology:Application Based Approach.* Tata McGraw-Hill Education. p. 5. ISBN 9780070151475.
15- Prajapati, J.B. and B.M. Nair. (2003). The history of fermented foods. pp. 1–25. *In*: Farnworth, E.R. (ed.). Fermented Functional Foods. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Washington DC.
16- Prajapati, J.B. and Nair B.M. (2003) The history of fermented foods. pp. 1–25. In: Farnworth, E.R. (ed.). Fermented Functional Foods. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Washington DC
17- Joshi, R. Sharma V. and Kuila A.*(2018) Fermentation Technology:Current Status and Future Prospects Principles and Applications of Fermentation Technology,(3–13) © Scrivener Publishing LLC
18- Ross, R.P., Morgan S. and Hill. C. (2002) Preservation and fermentation: past, present and future. International Journal of Food Microbiology 79: 3–16.
19- Ross, R.P., Morgan S. and Hill. C. (2002) Preservation and fermentation: past, present and future. International Journal of Food Microbiology 79: 3–16.

20- Singh, J., Kaushik, N., and Biswas, S. (2014) Bioreactors – technology & design analysis. *Sci. tech. J*., 1, 28–36.

21- Singh, J., Kaushik, N., Biswas, S., Bioreactors – technology & design analysis. *Sci. tech. J*., 1, 28–36, 2014.

22- Strauch & Schmidt (1932) German patent 552,241. Cited by De Becze G & Liebmann AJ (1944)

23- Vishwajeet, G.; Anil, P.; Shubham, J.; Poorva, S.; Akshay, B.; Akshay, J. and Navnidhi, C. (2018) Designing of Fermenter and its utilization in food industries., *Preprints* (www.preprints.org)

24- Williams, J.A. (2002) Keys to Bioreactor Selection, CEP Magazine. *Google Scholar*. **2007,**, 34-41

25- Sharma, K.R.,(2012) Design and operational key factors of bioreactor. *Biotech Articles.*

26- Bueno, E.M.; Bilgen, B.; Carrier, R.L.; Barabino, G.A.(2004) Increased rate of chondrocyte aggregation in a wavy-walled bioreactor. *Biotechnology and bioengineering*. 88,767-77.

27- Li, X., Xu, Q., Wang, Y., Chen, F., and He, J. (2016). Development of a new miniaturized bioreactor for axon stretch growth. *J. Integr. Neurosci.* 15, 365– 380. doi: 10.1142/s0219635216500230.

28- Pirasaci, T., Manisali, A. Y., Dogaris, I., Philippidis, G., and Sunol, A. K. (2017). Hydrodynamic design of an enclosed Horizontal BioReactor (HBR) for algae cultivation. *Algal. Res.* 28, 57–65. doi:10.1016/j.algal.2017.10.009.

29- Zhuo, M., Abass, O. K., and Zhang, K. (2018). New insights into the treatment of real N,N-dimethylacetamide contaminated wastewater using a membrane bioreactor and its membrane fouling implications. *RSC Adv.* 8, 12799–12807. doi: 10.1039/c8ra01657g.

30- Christoffersson, J., and Mandenius, C. F. (2019). Using a microfluidic device for culture and drug toxicity testing of 3D cells. *Methods Mol. Biol.* 1994, 235–241. doi: 10.1007/978-1-4939-9477-9_22.

31- Jagani*, H., Hebbar, K. Sagar S. Gang, P., Raj, V. Raghu, Chandrashekhar H. and J. Venkata Rao.(2010) Pharmacologyonline 1: 261-301

32- Gueguim-Kana E.B., Oloke J.K., and Lateef, A. (2002). Advanced control of fermentation processes. Res. Commun. Microbiol. (In press).