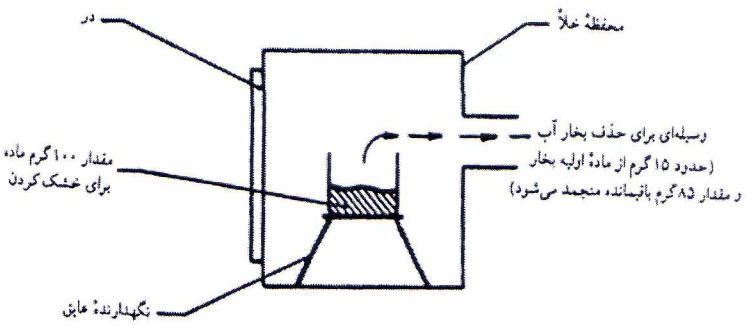
۲-٤-۲-٤ لیوفیلیزه کردن[3]

لیوفیلیزه کردن یا خشک‌کردن انجمادی[4]، شامل منجمدکردن کشت میکربی و سپس خشک‌کردن آن در خلأ است. در فرایند لیوفیلیزه کردن، به‌جای آن‌که ماده موردنظر به‌طور مستقیم در حالت مایع خشک شود، ابتدا ماده موردنظر منجمد و سپس در فشار پایین خشک می‌شود؛ زیرا خشک‌کردن مستقیم از حالت مایع، موجب چروکیده شدن[5] و ایجاد تغییرات نامطلوب در ماده خشک شده می‌شود و آب‌گیری مجدد[6] آن را نیز با مشکل می‌کند.

ساده‌ترین شکل دستگاه لیوفیلیزه کننده[7]، شامل یک محفظه خلأ است که نمونه موردنظر در آن قرار داده می‌شود. در اثر ایجاد خلأ، آب موجود در نمونه، بخار می‌شود و خروج بخارهای آب از محفظه خلأ، موجب کاهش دمای نمونه و درنتیجه انجماد آن می‌شود. سپس فشار بخار آب در زیر فشار نقطه سه‌گانه[8] نگاه داشته می‌شود. در این مرحله، دمای نمونه کاهش می‌یابد تاجایی‌که دمای آن به زیر نقطه انجماد برسد و تصعید نمونه - تا وقتی که شدت حرارت ورودی به نمونه به‌وسیله هدایت، تشعشع و جابه‌جایی برابر افت حرارت از نمونه درنتیجه تصعید مولکول‌های پرانرژی شود - ادامه می‌یابد و پس از آن تصعید متوقف می‌شود(شکل ۲-۱).

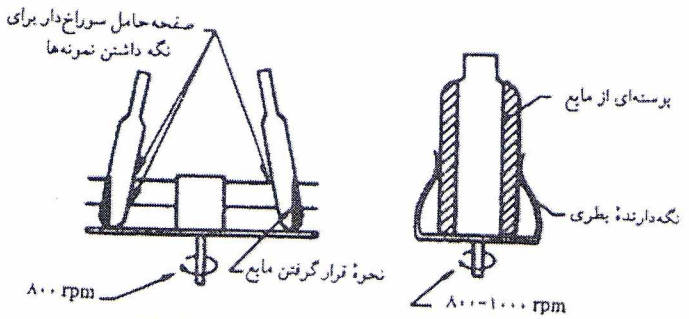
---

1. Annear
2. *Salmonella ndolo*
3. lyophilization
4. freeze – drying
5. shrinkage
6. rehydration
7. lyophilizer
8. triple – point



شکل ۲-۱ شمایی از نوعی خشک‌کن انجمادی بسیار ساده [۱۶۰].

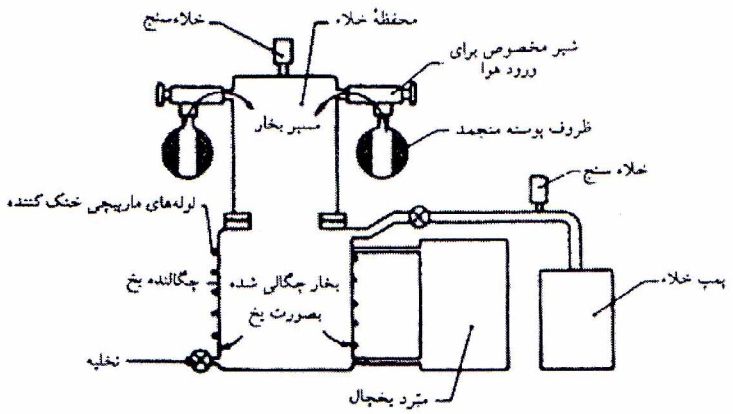
روش ساده فوق مشکلات بسیاری دارد. یکی از مشکلات، کف‌کردن نمونه در حین عملیات است. مقدار کف با استفاده از سانتریفوژکردن با سرعت کم کاهش می‌یابد. سانتریفوژکردن همچنین با کاهش ضخامت نمونه و نیز ایجاد سطح بیش‌تر، باعث خشک‌شدن سریع‌تر نمونه می‌شود(شکل ۲-۲).



شکل ۲-۲ کاهش کف به‌وسیله سانتریفوژ [۱۶۰].

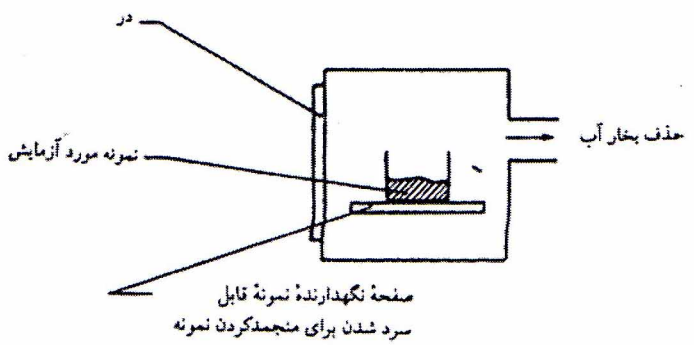
روش دیگر لیوفیلیزه کردن ماده آن است که ماده موردنظر، پیش از قرار گرفتن در خلأ، منجمد شود. این‌کار معمولاً در لیوفیلیزه کننده‌های کوچک آزمایشگاهی با انجماد نمونه در داخل یک ظرف انجام می‌شود. سپس ظرف از طریق یک اتصال چندشاخه[1] به چگالنده یخ[2] متصل می‌شود. برای سرعت بخشیدن به فرایند، می‌توان ماده را با چرخاندن ظرف در یک حمام با دمای پایین - که به ایجاد ضخامت کم‌تر و سطح بیش‌تر منجر می‌شود - منجمد کرد(شکل ۲-۳).

1. manifold
2. ice condenser



شکل ۲-۳ شمایی از نوعی خشک‌کن انجمادی آزمایشگاهی با ظروف پوسته منجمد[1] متصل به یک چند شاخه [۱٦۰].

برای تجهیزاتی در مقیاس بزرگ، معمولاً نمونه برروی یک صفحه نگه‌دارنده در داخل محفظه خشک‌کن قرار می‌گیرد. در این حالت نیز می‌توان پیش از ایجاد خلأ، نمونه را در فشار محیط منجمد کرد(شکل ۲-٤).



شکل ۲-٤ خشک‌کن انجمادی همراه با صفحه نگه‌دارنده محصول [۱٦۰].

درصورت کنترل نشدن حرارت ورودی به نمونه، دمای آن کاهش می‌یابد و عملاً فرایند خشک‌کردن متوقف می‌شود. به‌همین‌دلیل معمولاً یک منبع حرارتی به صفحات نگه‌دارنده متصل می‌شود. به‌این‌ترتیب، می‌توان پس از انجماد محصول، از این منبع حرارتی برای جایگزین کردن

1. shell-frozen flasks

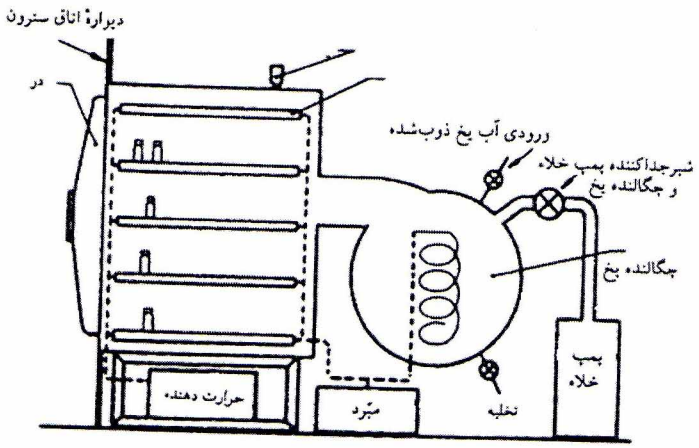
ویژه از دست‌رفته درنتیجه تصعید مولکول‌های آب و ثابت نگه‌داشتن دما استفاده کرد.

در فرایند معمول لیوفیلیزه کردن، یک گرم یخ، معادل ۱/۰۰۰/۰۰۰ میلی‌لیتر بخار آب ایجاد می‌کند. تولید این حجم بخار آب، موجب ایجاد مشکل برای پمپ‌های خلأ[1] می‌شود. به‌همین‌دلیل از چگالنده یخ بین محفظه لیوفیلیزه کننده و پمپ خلأ استفاده می‌شود.

در دستگاه‌های لیوفیلیزه کننده امروزی، اصلاحاتی صورت گرفته است. نمونه‌ای از این نوع لیوفیلیزه کننده‌ها در شکل ۲-۵ دیده می‌شود.

مهم‌ترین اصلاحات عبارتند از:

- جداسازی محفظه خشک‌کن و چگالنده یخ به‌منظور کاهش احتمال آلودگی؛
- ساخت محفظه خلأ و چگالنده یخ به‌صورت قابل سترون با بخار در دمای ۱۲۱°C یا بالاتر؛
- خنک‌کردن و گرم‌کردن صفحات نگه‌دارنده از طریق یک سیال در گردش به‌منظور کنترل دقیق دما؛
- تجهیزات اضافی برای کنترل و ثبت متغیرهای فرایند؛
- استفاده از صفحات نگه‌دارنده متحرک برای بستن دریچه‌های شیاردار[2] مورداستفاده در ویال‌ها[3] و نیز تسهیل تمیزکردن و بارگذاری سامانه [۱۶۰].



شکل ۲-۵ شمایی از نوعی خشک‌کن انجمادی صنعتی [۱۶۲].

1. vacuum pumps
2. slotted bungs
3. vials

برای لیوفیلیزه کردن کشت میکربی، ابتدا میکروارگانیسم تا انتهای مرحله لگاریتمی کشت داده می‌شود و سپس سلول‌ها در یک محیط کشت محافظت کننده[1] مانند شیر، سرم یا گلوتامات سدیم به‌صورت تعلیق درمی‌آیند. چند قطره از تعلیق به یک ظرف کوچک شیشه‌ای مخصوص منتقل و منجمد می‌شود. سپس با ایجاد خلأ، عمل تصعید صورت می‌گیرد و پس از کامل شدن تصعید، درب ظرف شیشه‌ای کاملاً بسته می‌شود. ظرف حاوی میکروارگانیسم را می‌توان در یخچال نگهداری کرد و به‌این‌ترتیب، سلول‌ها به مدت ده سال یا بیش‌تر، قابلیت حیات خود را حفظ می‌کنند.

لیوفیلیزه کردن میکروارگانیسم‌ها در مجموعه‌های میکربی متداول است، زیرا پس از خشک و لیوفیلیزه شدن نمونه، تجهیزات یا مراقبت‌های خاصی برای نگهداری نمونه نیاز نیست. استفاده مجدد از میکروارگانیسم‌های لیوفیلیزه شده تا حدی وقت‌گیر بوده و ممکن است برای رسیدن به خصوصیات اولیه میکروارگانیسم به چندبار کشت مجدد نیاز باشد[١٦٢].

۸-۶ مراحل نهایی آماده‌سازی محصول

۸-۶-۱ خشک‌کردن

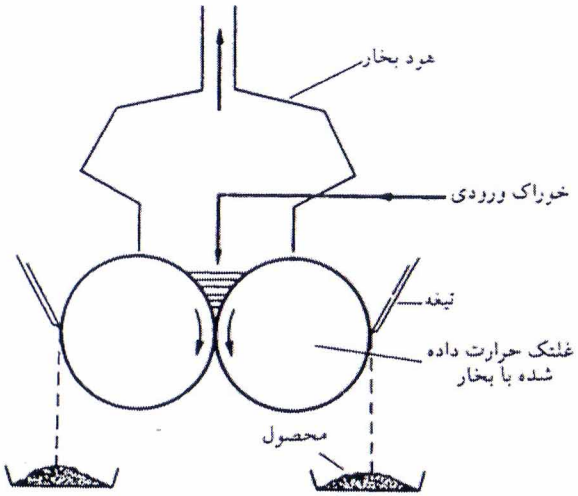
در اغلب موارد، خشک‌کردن آخرین مرحله فرایند تولید محصول است. خشک‌کردن شامل جداسازی نهایی آب از ماده حساس به حرارت است به‌گونه‌ای‌که حداقل اثر مخرب برفعالیت و ارزش تغذیه‌ای یا قابلیت حیات آن داشته باشد. خشک‌کردن محصول به‌دلایل زیر صورت می‌گیرد:

- کاهش هزینه حمل‌ونقل؛
- استفاده و بسته‌بندی ساده‌تر محصول؛
- ذخیره ساده‌تر و طولانی‌تر محصول.

خشک‌کن‌ها را می‌توان با توجه به روش انتقال حرارت به محصول ومیزان تکان‌دهی محصول تقسیم کرد. در خشک‌کن‌های تماسی، محصول با سطح حرارت داده شده‌ای تماس پیدا می‌کند. نمونه‌ای از این خشک‌کن‌ها، خشک‌کن غلتکی[1] است که برای محصولات زیستی با پایداری حرارتی بیشتر، استفاده می‌شود (شکل ۸-۱۷). در این نوع خشک‌کن، جریان دوغابی حاوی محصول، روی غلتک حرارت داده شده با بخار - که به‌آرامی حول محورخود

1. drum dryer

می‌چرخد - ریخته می‌شود. به‌این‌ترتیب آب موجود در جریان ورودی تبخیر می‌شود و محصول خشک مانند صافی‌های دوار تحت خلأ، به‌وسیله تیغه‌ای تراشیده می‌شود. برای کاهش دما می‌توان از خشک‌کن غلتکی تحت خلأ استفاده کرد.

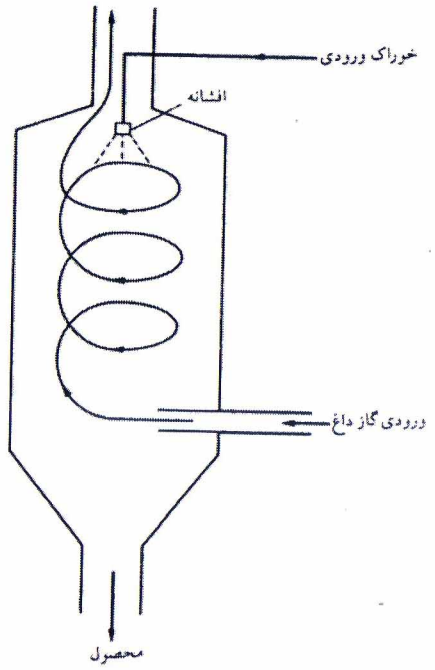


شکل ۸-۱۷ سطح مقطع خشک‌کن غلتکی [۱۶۲].

در مورد فراورده‌های زیستی، درصورتی‌که خوراک ورودی مایع یا خمیری شکل باشد، متداول‌ترین خشک‌کن مورداستفاده خشک‌کن *پاششی*[1] است (شکل ۸-۱۸). در این نوع‌خشک‌کن، خوراک ورودی به‌جای تماس مستقیم با سطوح داغ، به‌وسیله افشانه یا دیسک دواری به‌صورت قطره‌هایی ریز درمی‌آید. این قطره‌های ریز سپس در مسیری مارپیچی از گاز داغ در دمای ۱۵۰ تا ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گیرند. نسبت سطح به حجم بالای قطره‌ها، موجب تبخیر سریع و خشک شدن آن‌ها در زمانی بسیار کوتاه می‌شود. حرارت انتقال یافته بر اثر تبخیر، مانع از تخریب محصولات در اثر حرارت زیاد می‌شود. شدت جریان گاز داغ ورودی باید به‌گونه‌ای تنظیم شود که جریان گاز، ظرفیت حمل رطوبت لازم را در خروجی خشک‌کن – که دمای گاز تاحدود ۷۵ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد کاهش می‌یابد - داشته باشد. در اغلب فرایندها، بازیافت ذرات بسیار کوچک از جریان گاز خروجی، به‌وسیله سیکلون یا صافی صورت می‌گیرد.

1. spray dryer

خشک‌کن پاششی برای خشک‌کردن مواد با حجم زیاد، اقتصادی‌ترین نوع خشک‌کن است. فقط درصورتی‌که شدت جریان خوراک ورودی کمتر از $6\ kg\ min^{-1}$ باشد، استفاده از خشک‌کن‌های غلتکی مقرون به صرفه‌تر است.



شکل ۸-۱۸ خشک‌کن پاششی ناهم جهت [۱۶۲].

خشک‌کردن انجمادی، عملیاتی مهم برای تولید بسیاری از محصولات زیستی و فراورده‌های دارویی است. در این روش، ماده موردنظر منجمد و سپس در خلأ بالا تصعید می‌شود. مزیت اصلی این روش، فقدان آثار زیانبار برای مواد حساس به حرارت است. درصورتی‌که حلال تبخیرشده آب باشد، این روش *لیوفیلیزه کردن* نامیده می‌شود

استفاده از *خشک‌کن‌های با بستر سیالی شده*[1] در صنایع داروسازی رو به گسترش است. دراین نوع خشک‌کن‌ها، هوای داغ به ستونی از جامدات سیالی شده، وارد می‌شود. مایع

مرطوب به‌طور مداوم از یک طرف وارد و ماده خشک نیز به‌طور مداوم از طرف دیگر خارج می‌شود. انتقال جرم بسیار بالا در این نوع خشک‌کن به تبخیر سریع و نگاه‌داشتن کل بستر در حالتی خشک منجر می‌شود [۱۶۲].

۸-۶-۲ متبلورسازی

متبلورسازی، تشکیل ذرات جامد با اندازه و شکل معین از یک فاز مایع همگن، از قدیمی‌ترین روش‌های تخلیص است. چینی‌ها برای اولین‌بار در حدود ۵۰۰۰ سال پیش با این روش نمک را از آب دریا به‌دست آوردند. نمک‌های معدنی مانند سولفات‌های سدیم و آمونیم ونیز برخی ترکیبات آلی مانند ساکارز و گلوکز در مقادیر زیاد، به‌شکل بلوری تولید می‌شوند [۴۵].

درحال‌حاضر برای تخلیص نهایی برخی از فراورده‌های زیستی، از فرایند متبلورسازی استفاده می‌شود. برای مثال، برای تولید اسید سیتریک، محلول حاصل از تخمیر، ابتدا از صافی عبور می‌کند و سپس به آن $Ca(OH)_2$ افزوده می‌شود. به‌این‌ترتیب بلورهای سیترات کلسیم که نسبتاً نامحلول هستند تشکیل و ته‌نشین می‌شوند. باید دقت کرد که میزان منیزیم در $Ca(OH)_2$ از حد معینی فراتر نرود، زیرا سیترات منیزیم حلالیت بیشتری دارد و در محلول باقی می‌ماند. سپس سیترات کلسیم صاف و به آن اسید سولفوریک افزوده می‌شود. افزودن اسید سولفوریک موجب می‌شود که کلسیم به‌صورت نمک نامحلول سولفات کلسیم رسوب کند و اسیدسیتریک آزاد شود. پس از شفاف‌سازی با کربن فعال، محلول آبی اسیدسیتریک تا نقطه تبلور حرارت می‌بیند و آب آن تبخیر می‌شود.

متبلورسازی همچنین در جداسازی اسیدهای آمینه ونیز جداسازی سفالوسپورین C به‌شکل نمک سدیم و یا پتاسیم آن به‌کار رفته است [۱۶۲].