

تولید اسیدلاکتیک از آب پنیر بدون پروتئین، در فرایند ناپیوسته، توسط لاکتوباسیلوس بولگاریکوس

سکینه فخرآور^۱، سعید زینالی هریس^{۱*}، محمد ایزدی^۲، قاسم نجف پور^۳

۱- مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده مهندسی، گروه مهندسی شیمی

۲- تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی شیمی

۳- بابل، دانشگاه صنعتی نوشیروانی، دانشکده مهندسی شیمی

پیام نگار: zeinali@ferdowsi.um.ac.ir

چکیده

اسید لاکتیک یک اسید آلی است که کاربردهای گسترده‌ای در صنایع مختلف دارد. امروزه به دلیل سنتز پلاستیک‌های تخریب ناپذیر از آن، نیاز به تولید اسیدلاکتیک افزایش یافته است. در این پروژه تأثیر دما، pH و منابع نیتروژنی افزودنی متفاوت، بر تولید اسیدلاکتیک از آب پنیر دی پروتئینه، توسط لاکتوباسیلوس بولگاریکوس در فرایند تخمیر ناپیوسته بررسی شد و مقادیر بهینه برای تولید حداکثر به دست آمد. فرایند در مدت انکوباسیون ۷۲ ساعت و بدون کنترل pH انجام شد. بیشترین اسیدلاکتیک تولید شده و بازدهی در محیط کشت حاوی ۴۰ گرم بر لیتر لاکتوز و ۲۰ گرم بر لیتر عصاره مخمر، به ترتیب، ۲۴/۸ گرم بر لیتر و ۰/۶۲ درصد بوده است. هم چنین دمای بهینه برای رشد سلولی و تولید اسیدلاکتیک ۳۲ درجه سلسیوس و pH مناسب در فاصله (۶-۶/۵) تعیین شد.

کلمات کلیدی: اسیدلاکتیک، فرایند ناپیوسته، آب پنیر، لاکتوباسیلوس

۱- مقدمه

[۳و۲]. در سال ۲۰۰۸ مصرف جهانی اسیدلاکتیک در حدود (۱۵۰۰۰۰-۱۳۰۰۰۰) تن در سال بوده که بیانگر مصرف بالای اسیدلاکتیک در سال‌های اخیر می‌باشد [۴]. اسید لاکتیک به دو روش شیمیایی و زیست‌شناختی تولید می‌شود. تحقیقات نشان داده است که روش زیست‌شناختی مطلوب تر از روش شیمیایی است. چون می‌توان از مواد خام نسبتاً ارزانی مانند پساب کارخانجات لبنی مثل آب پنیر، پساب کشاورزی مانند ملاس، مواد ژلاتینی مانند نشاسته و گندم و پساب کارخانه‌های دیگر به عنوان منبع قندی برای رشد ریزاندام استفاده کرد [۴و۵]. در این محیط‌ها، ریزاندام‌ها طی زمانی مشخص، از منبع قندی موجود، تغذیه و رشد می‌کنند و

اسید لاکتیک که به اسید شیر شناخته شده است، اولین اسید آلی است که با روش تخمیر تولید شد و برای اولین بار، توسط شیمیدان سوئدی^۱، در سال ۱۷۸۰ از شیر ترش شده جداسازی گردید و تولید صنعتی آن در سال ۱۸۸۱ توسط Avery در آمریکا آغاز شد [۱]. به دلیل مصرف فراوان اسیدلاکتیک و مشتقات آن در صنایع غذایی، نساجی، دارویی، آرایشی، شیمیایی و خصوصاً بسپاری (برای تولید پلی لاکتیک‌ها که جایگزین مناسبی برای بسپارهای زیست تخریب ناپذیر هستند)، تولید اسیدلاکتیک در جهان رو به افزایش است

1. Carl Wilhelm Scheele

سلسیوس، به مدت ۲۰ دقیقه استریل شد و آب پنیر دی پروتئینه و خنثی بعد از یک روز انکوباسیون به منظور رشد باکتری‌ها، به آن تلقیح شد.

۲-۳ آماده‌سازی آب پنیر و محیط کشت

آب پنیر مورد استفاده در این تحقیق، از کارخانه پنیرسازی گلا واقع در آمل تهیه شده است. شیر در کارخانه از فرایند فراضاف کردن^۳ عبور داده شده تا بخشی از املاح و تمامی پروتئین‌های موجود در آن، جدا و آب پنیر حاصل عاری از کازئین (پروتئین شیر) و چربی شود. از آن جا که پروتئین موجود در آب پنیر، پروتئین قابل استفاده توسط ریزاندام‌ها نیست، در آزمایشگاه آب پنیر را حرارت می‌دهند تا اگر بعد از فرایند فراضاف کردن، مقداری پروتئین باقی بماند، حذف گردد. در آزمایشگاه آب پنیر را حرارت می‌دهند تا پروتئین‌های موجود در آن به شکل لخته‌های سفید روی سطح شناور و یا ته‌نشین شوند. سپس با پمپ خلأ یا صافی این ذرات و لخته‌ها جداسازی می‌شوند. آب پنیر حاصل بسیار شفاف است و رنگ سبز مایل به زرد دارد. آب پنیر بعد از پروتئین‌زدایی، از نظر مواد غذایی ضعیف است و منبع غذایی کافی برای رشد ریزاندام‌ها را ندارد و لازم است تا از منابع غذایی افزودنی استفاده شود [۹]. آب پنیر اولیه pH حدود ۶/۵ دارد. برای اینکه قند موجود در آب پنیر (لاکتوز) به گلوکوز و گالاکتوز هیدرولیز شود، به آب پنیر دی پروتئینه اسید سولفوریک اضافه می‌شود (۲ میلی‌لیتر، به ازای هر لیتر آب پنیر)، تا مواد موجود در آن هیدرولیز و به شکل قابل استفاده برای ریزاندام‌ها در بیایند. بعد از یک روز، با هیدروکسید سدیم ۱ مولار، آب پنیر را خنثی می‌کنند (pH=7) تا آماده استفاده برای آزمایش شود. محیط کشت برای شروع فرایند تخمیر در شرایط بی‌هوای، تلفیق حجم مشخصی از آب پنیر با ۳٪ تا ۵٪ حجمی از محیط پیش کشت می‌باشد. این محیط در انکوباتور همزن‌دار قرار می‌گیرد (دمای بهینه ۳۲ درجه سلسیوس و دور ۱۸۰rpm) تا ریزاندام‌ها رشد کنند و از لاکتوز موجود در آب پنیر طی واکنش‌های، اسیدلاکتیک تولید نمایند.

۲-۴ اندازه گیری غلظت اسیدلاکتیک

در این تحقیق از روش (Shim-pack CLC-ODS) HPLC استفاده

3 -Ultra Filtration

طی مراحل مختلف، در حین تخمیر، اسیدلاکتیک تولید می‌نمایند [۶]. خلاصه‌ای از واکنش‌های زیست‌شیمیایی انجام گرفته در فرایند تولید اسیدلاکتیک، در سری معادله (۱) (چرخه EMP)^۱ نشان داده شده است [۴]:

(۱)

لاکتوز → گالاکتوز + گلوکوز

گلوکوز + Pi + ۲ آدنوزین دی فسفات → ۲ لاکتات + ۲ آدنوزین تری فسفات + H_2O

گلوکوز → ۲ اسیدلاکتیک

در سری معادله بالا Pi ترکیب فسفات غیر آلی، ADP آدنوزین دی فسفات و ATP آدنوزین تری فسفات می‌باشد. این پروژنه یک طرح نو به منظور استفاده از ضایعات برای رسیدن به ماده مفید و قابل مصرف می‌باشد که در آن به منظور افزایش تولید اسیدلاکتیک از آب پنیر که پساب کارخانجات تولید لبنیات و به عنوان منبع مغذی لاکتوز برای مصرف ریزاندام‌هاست استفاده شد [۷]. شرایط متفاوت دما و pH و افزودن منابع نیتروژنی متفاوت بررسی شد و مقدار بهینه برای حداکثر تولید از حداقل منابع غذایی مکمل و حداقل هزینه به دست آمد.

۲-۲ مواد و روش‌ها

۲-۱ ریزاندام

ریزاندام مورد استفاده در این پژوهش، لاکتوباسیلوس^۲ بولگاریکوس (باکتری گرم مثبت، بی‌هوای و امن) [۸] است که از سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران تهیه شد. لاکتوباسیلوس بولگاریکوس یک باکتری هموفرمانتیو است که بیش از ۹۸٪ اسیدلاکتیک L(+) تولید می‌کند.

۲-۲ محیط پیش کشت

بر اساس مطالعات انجام گرفته برای تهیه محیط کشت از محیط پیش کشت استفاده شد. محیط کشت بهترین شرایط و مواد غذایی را برای لاکتوباسیلوس‌ها فراهم می‌کند. در این تحقیق نیز، چندین محیط پیش کشت، با منابع نیتروژنی متفاوت، آماده شد تا بهترین شرایط رشد به دست آید. محیط پیش کشت در دمای ۱۲۱ درجه

1. Embden -Myerhol-Parnas Pathway Recycle

2. *Lactobacillus Bulgaricus* (ATCC 8001, PTCC 1332)

شده است با ردیاب (SPD-6A) (۲۱۰ نانومتر)، فاز مایع: (۱۰۰ میلی مولار سدیم پرکلرات + ۱۰ میلی مولار فسفات بافر) (pH=2.6) و شدت جریان: ۰/۸ میلی لیتر بر دقیقه.

۲-۵ اندازه‌گیری غلظت لاکتوز

برای اندازه‌گیری غلظت لاکتوز از معرف دی نیتروسالیسیک اسید^۱ استفاده شده است. قبل از اندازه‌گیری قند در هر نمونه لازم است تا یک منحنی کالیبراسیون^۲ به دست آید. با بدست آوردن منحنی کالیبراسیون و معادله خطی آن و با داشتن میزان جذب نور (کدورت) نمونه، قند نمونه مجهول به دست می‌آید. برای به دست آوردن منحنی کالیبراسیون باید محلول استاندارد ۲ گرم بر لیتر لاکتوز تهیه شود. با رقیق سازی آن، ده نمونه با غلظت‌های متفاوت از لاکتوز (۲۰۰ الی ۱۸۰۰ میلی گرم بر لیتر) به دست می‌آید. روش کار در به دست آوردن منحنی استاندارد، استفاده از معرف دی نیتروسالیسیک اسید است. ترکیب ۱ میلی لیتر از معرف و ۱ میلی لیتر از هر محلول با غلظت‌های متفاوت از لاکتوز (در آزمایش، ترکیب ۱ میلی لیتر معرف و ۱ میلی لیتر نمونه مجهول)، به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه، در حمام آب جوش، حرارت داده می‌شود و سپس به مدت ۵ تا ۷ دقیقه در ظرف آب و یخ، خنک می‌گردد تا به دمای محیط برسند. سپس به این محلول ۸ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه می‌شود و بعد از ورتکس نمونه‌ها میزان جذب نور آن‌ها در طول موج ۵۴۰ نانومتر در طیف نورسنج سنجش می‌شود و باتوجه به غلظت لاکتوز در هر نمونه و جذب نور آن، منحنی استاندارد تهیه می‌گردد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱ تأثیر دما بر تولید اسید لاکتیک

برای هر ریزاندام یک محدوده دمایی معین و بهینه برای رشد وجود دارد. برای به دست آوردن دمای بهینه برای رشد سلولی و تولید اسید لاکتیک توسط لاکتوباسیلوس‌ها، دما از ۳۰ °C تا ۴۰ °C تغییر یافت. نتایج در جدول (۱) نشان می‌دهد که در دمای ۳۲ °C رشد بیوماس، درصد تبدیل لاکتوز، تولید اسیدلاکتیک و بازدهی بالاتر از سایر دماها بوده است. زیرا در این دما لاکتوباسیلوس‌ها شرایط بهتری برای رشد و تکثیر دارند. بنابراین

کلیه آزمایش‌های بعدی در این دما انجام شد.

۳-۲ تأثیر pH بر تولید اسید لاکتیک

با تولید اسید در طول فرایند، pH همواره کاهش می‌یابد. تحقیقات نشان داده است که pH بهینه برای تولید اسید لاکتیک در محدوده (۶-۶/۵) می‌باشد [۱۰] زیرا در این فاصله، محیط ظرفیت بالاتری برای تولید اسید دارد. اما با کاهش پیوسته pH با تولید اسید لاکتیک، ظرفیت محیط برای تولید اسید، کاهش می‌یابد. بنابراین بهتر است که pH در فرایندهای تخمیر، ثابت نگهداشته شود. این کار را می‌توان با خنثی سازی محیط توسط بازه‌هایی مانند هیدروکسیدسدیم، هیدروکسید پتاسیم و بازه‌های دیگر انجام داد. روش دیگر این است که اسید تولید شده پیوسته از محیط خارج شود. جدول (۲) و (۳) تأثیر pH را بر تولید اسیدلاکتیک نشان می‌دهد. در این پروژه pH کنترل نشده و pH واقعی در هر لحظه به ثبت رسیده است.

جدول ۱- تأثیر دما بر جرم خشک سلولی، درصد تبدیل لاکتوز، تولید اسید لاکتیک و بازدهی با جزء مورد عمل آب پنیر حاوی ۴۰ (g/L) لاکتوز و ۱۰ (g/L) عصاره مخمر^۳، توسط لاکتوباسیلوس بولگاریکوس

دما (°C)	جرم خشک سلولی (g/L)	درصد تبدیل لاکتوز (%)	اسید لاکتیک (g/L)	بازدهی (%)
۳۰	۶/۰۲	۰/۸۴	۲۰/۷۱	۰/۵۲
۳۲	۶/۴۵	۰/۸۷	۲۲/۸۸	۰/۵۷
۳۴	۶/۳۳	۰/۸۵	۲۱/۱۴	۰/۵۳
۳۶	۵/۹۶	۰/۸۲	۱۸/۰۹	۰/۴۵
۳۸	۵/۴۲	۰/۷۶	۱۵/۲۳	۰/۳۸
۴۰	۵/۰۷	۰/۷۳	۱۳	۰/۳۲

3. Yeast Extract

1. DNS Method
2. Calibration Curve

جدول ۲- تأثیر pH بر تولید اسید لاکتیک

زمان (h)	pH	اسید لاکتیک (g/L)
۰	۷	۰
۱۲	۶/۷۵	۲/۷۷
۲۴	۶/۵	۷/۳۱
۳۶	۶/۲۱	۱۱/۶۴
۴۸	۵/۹	۱۶/۷۷
۶۰	۵/۲۴	۲۰/۲۳
۷۲	۴/۷۳	۲۲/۸

بازه pH	اسید لاکتیک (g/L)	درصد اسید لاکتیک تولید شده (%)
۶/۵-۷	۷/۳۱	۰/۳۲
۵/۹-۶/۵	۹/۴۶	۰/۴۲
۴/۷۳-۵/۹	۶/۰۳	۰/۲۶

لاکتوباسیلوس ها، بسیار مفید است. با افزایش این منبع غذایی بارز، ریزاندامها بیشتر و بهتر رشد و نمو می کنند و تا زمانی که منبع غذایی در دسترس آنها باشد، فرایند تخمیر را انجام و اسیدلاکتیک تولید می کنند. بیشترین اسید لاکتیک تولید شده در محیط حاوی ۲۰ گرم بر لیتر عصاره مخمر، ۲۴/۸ گرم بر لیتر و کمترین اسید لاکتیک تولید شده ۹/۲۳ گرم بر لیتر و از محیط کشت بدون عصاره مخمر می باشد که بیانگر افزایش تولید اسیدلاکتیک با افزایش عصاره مخمر است. در حالیکه درصد تبدیل سوبسترا به اسید لاکتیک با افزایش عصاره مخمر از ۰ تا ۲۰ گرم بر لیتر، از ۰/۷۳ تا ۰/۸۹ افزایش می یابد، با افزایش عصاره مخمر از ۲۰ تا ۳۰ گرم بر لیتر، تغییر چندانی در مقدار اسید لاکتیک تولید شده و تبدیل لاکتوز به اسید لاکتیک مشاهده نمی شود. به دلیل تجمع مولکولی، مقدار اسیدلاکتیک اندکی کاهش می یابد. شکل (۱) بازدهی و بهره‌وری فرایند را در پنج غلظت متفاوت عصاره مقایسه کرده و نتایج مذکور را تأیید می کند.

جدول ۳- تأثیر غلظت عصاره مخمر بر تولید اسید لاکتیک

اسید لاکتیک (g/L)	جرم خشک سلولی (g/L)	درصد تبدیل لاکتوز (%)	غلظت عصاره مخمر (g/L)
۹/۲۳	۲/۴۱	۰/۷۳	۰
۱۶/۸	۴/۴۹	۰/۸۲	۵
۲۲/۵۷	۵/۴۷	۰/۸۵	۱۰
۲۴/۸	۶	۰/۸۹	۲۰
۲۴/۵	۵/۸۳	۰/۸۸	۳۰

با توجه به تأثیر مثبت عصاره مخمر در رشد سلولی و تولید اسیدلاکتیک، عصاره مخمر به عنوان یک فاکتور رشد برای ریزاندامها محسوب می شود. اما به علت هزینه بالای عصاره مخمر، استفاده از عصاره مخمر به تنهایی با غلظت بالا، به صرفه نیست و بهتر است از ترکیب عصاره مخمر با منابع نیتروژنی ارزانتر استفاده شود تا تولید اسیدلاکتیک زیاد و از لحاظ اقتصادی تیز به صرفه

نتایج جدول (۲) نشان می دهد که ۹/۴۶ گرم بر لیتر اسیدلاکتیک در فاصله $pH = (۶/۵-۹/۵)$ تولید شده است که معادل بالاترین درصد تولید در فاصله های مختلف pH می باشد (۰/۴۲) و هم چنین دیده می شود که با کاهش pH، کمترین اسیدلاکتیک تولید شده (۶/۰۳ گرم بر لیتر) را داریم. همانطور که ذکر شد با کاهش pH محیط اسیدی می شود و ظرفیت آن برای تولید اسید بیشتر کاهش می یابد.

۳-۳ تأثیر منابع نیتروژنی بر تولید اسید لاکتیک

۳-۳-۱ تأثیر غلظت عصاره مخمر بر تولید اسیدلاکتیک

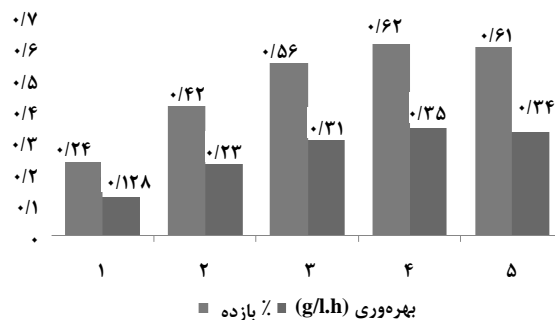
در این آزمایش تأثیر غلظت عصاره مخمر بر تولید اسید لاکتیک بررسی شد. فرایند تخمیر در ۷۲ ساعت انکوباسیون (روی خواب) صورت گرفت که در آن غلظت اولیه لاکتوز و pH اولیه به ترتیب ۴۰ گرم بر لیتر و ۷ بوده است. نتایج در جدول (۳) نشان داده شده است.

نتایج جدول (۳) نشان می دهد که با افزایش غلظت عصاره مخمر، جرم خشک سلولی و اسید لاکتیک تولید شده و هم چنین درصد تبدیل لاکتوز به اسیدلاکتیک افزایش می یابد زیرا عصاره مخمر ترکیبی از چندین ماده غذایی می باشد که برای تغذیه

۳-۲-۳ تأثیر منابع نیتروژنی مختلف

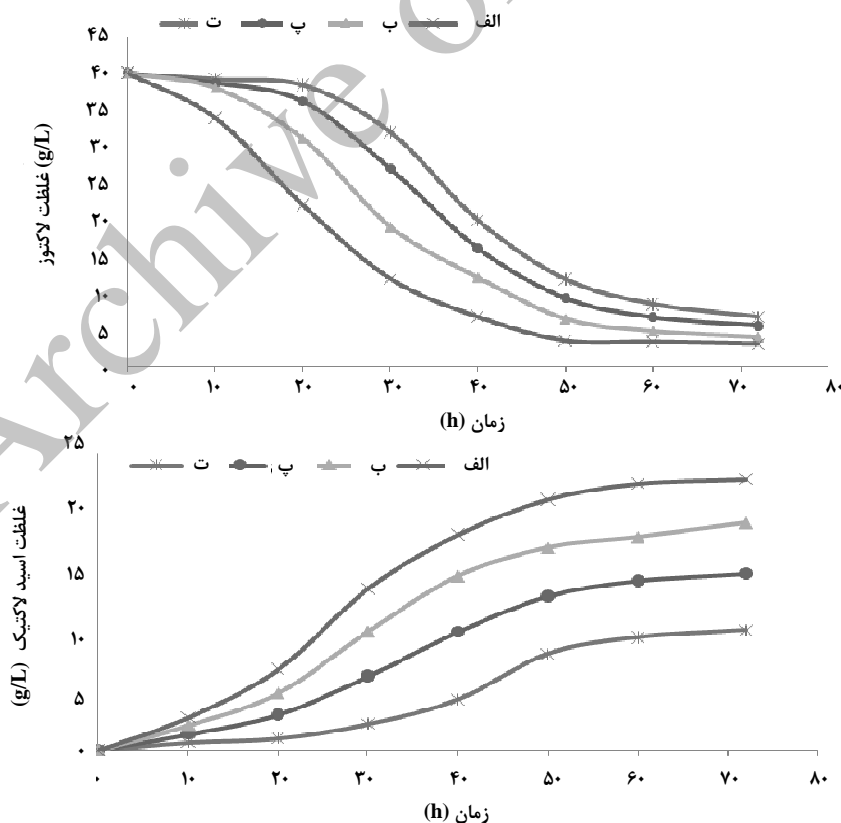
در این آزمایش، تأثیر افزودن منابع نیتروژنی مختلف بر آب پنیرون با مقدار اولیه ۴۰ گرم بر لیتر لاکتوز، بررسی می‌شود. فرایند در دمای ۳۲ °C و pH برابر ۷ انجام شد. مدت زمان انکوباسیون ۷۲ ساعت بوده است. نتایج در شکل (۲) نشان می‌دهد که در محیط کشت حاوی ۱۰ گرم بر لیتر عصاره مخمر، بیشترین مقدار اسیدلاکتیک (۲۲/۸۶ گرم بر لیتر) تولید شد در حالیکه در محیط‌های حاوی همان مقدار پپتون، آمونیوم سولفات و اوره، به ترتیب ۱۹/۲، ۱۴/۹ و ۱۰/۱ گرم بر لیتر اسید تولید شده است. این نتیجه بیانگر این است که در میان منابع نیتروژنی متفاوت، عصاره مخمر بیشترین تأثیر را بر تولید اسیدلاکتیک و درصد تبدیل قند به اسیدلاکتیک را داشته است. همانطور که در شکل (۲) دیده می‌شود، کمترین مقدار قند باقی مانده ۳/۱ گرم بر لیتر و مربوط به محیط حاوی عصاره مخمر بوده است که نشان‌دهنده ۰/۹۲٪ تبدیل لاکتوز به اسید لاکتیک است. این مقدار در محیط حاوی اوره به ۰/۸۴٪ کاهش می‌یابد.

باشد. از اینرو در آزمایش بعد، تأثیر ترکیب چند منبع نیتروژنی بر تولید اسید لاکتیک، مورد بررسی قرار گرفت.



در هر دو ستون کنار هم، ستون سمت چپ بازده (%) و ستون سمت راست بهره‌وری (g/L)

شکل ۱- تأثیر غلظت عصاره مخمر بر بازدهی و بهره‌وری تولید اسید لاکتیک در دمای ۳۲ °C (غلظت عصاره مخمر در هر ستون به ترتیب شماره بر حسب گرم بر لیتر: ۱-۰، ۲-۵، ۳-۱۰، ۴-۲۰، ۵-۳۰)



شکل ۲- تأثیر افزودن منابع نیتروژنی مختلف بر مصرف لاکتوز و تولید اسید لاکتیک (الف) ۱۰ (g/L) اوره (ب) ۱۰ (g/L) سولفات آمونیوم (پ) ۱۰ (g/L) پپتون (ت) ۱۰ (g/L) عصاره مخمر

تغذیه و رشد است. زیرا هر ریزاندام با نسبت معینی از پروتئین، نیتروژن، کربن و... استفاده می‌کند. بنابراین هر ماده غذایی به علت تفاوت در ترکیبات و میزان علاقه لاکتوباسیلوس‌ها به استفاده از آن‌ها، تأثیر متفاوتی بر فرایند می‌گذارند. سولفات آمونیوم هزینه بسیار کمتری نسبت به عصاره مخمر و پپتون دارد. بنابراین بهتر است به جای استفاده از عصاره مخمر یا پپتون با مقدار اولیه زیاد، از ترکیب آن‌ها با سولفات آمونیوم، استفاده کرد تا غلظت عصاره مخمر و پپتون با حضور سولفات آمونیوم کاهش یابد. از آنجایی که عصاره مخمر کارایی بیشتری نسبت به پپتون دارد و منابع غذایی موجود در آن بیشتر قابل استفاده برای لاکتوباسیلوس‌ها است، ترکیب سولفات آمونیوم با عصاره مخمر، نتیجه مطلوب تری از لحاظ تولیدی و اقتصادی خواهد داشت. بنابر این می‌توان با آزمایش‌های گوناگون، تولید اسید لاکتیک را با ترکیب درصدی متفاوت از این دو ماده را، بررسی کرد تا بهترین ترکیب درصد برای تولید زیاد با هزینه مناسب، به دست آید [۲].

۴- نتیجه‌گیری

در این تحقیق، هدف استفاده از پساب آلاینده آب پنیر برای تولید اسیدلاکتیک، به منظور حفظ محیط زیست و تولید اسیدلاکتیک با هزینه کمتر بوده است. فرایند تخمیر ناپیوسته آب پنیر توسط باکتری لاکتوباسیلوس، انجام شد. دما و pH بهینه به ترتیب در محدوده °C (۳۲-۳۴) و (۶-۶/۵) تعیین شد. به منظور کاهش هزینه، از حداقل منابع غذایی استفاده و میزان تولید بررسی شد. از آنجایی که که آب پنیر بعد از عبور از فرایند فواصل کردن، منبع غذایی کافی برای رشد لاکتوباسیلوس‌ها نداشت، افزودن منابع نیتروژنی متفاوت بر تولید اسیدلاکتیک به منظور تأمین نیاز غذایی ریزاندام‌ها، مورد بررسی قرار گرفت که در میان آن‌ها عصاره مخمر بیشترین تأثیر را در رشد سلولی و تولید اسیدلاکتیک داشت و افزایش مقدار آن در محیط، مسبب تولید و بازدهی بیشتر فرایند شد. در این پروژه با افزایش ۲۰ گرم بر لیتر عصاره مخمر، اسیدلاکتیک تولید شده و بازدهی فرایند، بترتیب ۱۵/۵۷ گرم بر لیتر و ۳۷٪ افزایش یافت که با توجه به آن، استفاده از این غلظت از عصاره مخمر برای تولید زیاد اسیدلاکتیک مناسب است اما به علت هزینه بالای آن بهتر است از منابع نیتروژنی دیگر توام با عصاره

جدول (۴) بازدهی و بهره‌وری فرایند و هم‌چنین جرم خشک سلولی را در این چهار محیط مقایسه می‌کند. اطلاعات جدول صحت نتایج مذکور را تأیید می‌کند. عصاره مخمر با داشتن حداکثر مقدار تولید و بازدهی، به عنوان فاکتور رشد برای ریزاندام‌ها محسوب می‌شود که به منظور تولید زیاد می‌توان از آن، استفاده کرد. اما به علت هزینه بالای عصاره مخمر، استفاده از آن به تنهایی و با مقدار اولیه زیاد از لحاظ اقتصادی به صرفه نیست. بنابر این بهتر است از عصاره مخمر توام با یک یا چند منبع نیتروژنی ارزانتر استفاده نمود تا فرایند از لحاظ تولید و اقتصاد بهینه شود [۱۰].

جدول ۴- تأثیر افزودن منابع نیتروژنی مختلف بر جرم خشک سلولی، بازدهی و بهره‌وری در دمای °C ۳۴، از پسماند آب پنیر، توسط باکتری لاکتوباسیلوس بولگاریکوس

منبع نیتروژنی (۱۰(g/L))	جرم خشک سلولی (g/L)	بازده (%) (گرم اسید لاکتیک/گرم لاکتوز اولیه)	بهره‌وری (g/L.h) (گرم اسید لاکتیک/مدت زمان انجام فرایند)
عصاره مخمر	۶/۳	۰/۶۱	۰/۳۴۱
پپتون	۶/۱	۰/۴۸	۰/۲۶۶
سولفات آمونیوم	۶/۰۵	۰/۳۷	۰/۲۰۷
اوره	۵/۸۸	۰/۲۵	۰/۱۴

تحقیقات نشان داد که در میان چهار منبع نیتروژنی مذکور، اوره کمترین بازدهی را دارد و استفاده از آن به صرفه نیست. تفاوت در رشد سلولی و تولید اسیدلاکتیک در هر محیط کشت با منبع غذایی متفاوت، حاکی از آن است که هر منبع غذایی تا چه حد قابل استفاده برای ریزاندام‌هاست. عصاره مخمر حاوی ترکیبات پروتئینی و اسیدهای آمینه (منبع نیتروژن) است که قابل استفاده برای لاکتوباسیلوس‌ها هستند و بهترین شرایط تغذیه را برای آن‌ها فراهم می‌کنند. کاهش میزان تولید در سایر منابع افزوده شده بیانگر آن است که ترکیبات نیتروژنی، اسیدهای آمینه و منابع غذایی آلی و معدنی موجود در آن‌ها، کمتر مورد استفاده لاکتوباسیلوس‌ها برای

- [4] Reddy,G.,Altaf, M.,Naveena, B.J.,Venkateshwar, M., Vijay Kumar,E., "Amylolytic bacterial lactic acid fermentation" *Biotechnol. Advances*, v. 26, p.22-34 (2008).
- [5] Panesar , P. S., Kennedy,J.F., Gandhi, D. N.,Bunko,K., "Bioutilisation of whey for lactic acid production" *Food Chemistry*, v.105, p.1-14 (2007),.
- [6] Tango, M.S.A.,Ghaly, A.E., "Effect of temperature on lactic acid production from cheese whey using *Lactobacillus helveticus* under batch conditions" *Biomass and Bioenergy*,v.16,p.61-78 (1999).
- [7] Schepers, A.W., Thibault, J.,Lacroix, C.,"Lactobacillus helveticus growth and lactic acid production during pH-controlled batch cultures in whey permeate/yeast extract medium" *Enzyme and Microbial Technology*, v. 30, p.176-186 (2002).
- [8] Giraffa,G., Chanishvili,N., Widyastuti, Y., "Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology" *Research in Microbiol.*, v.161, p.480e487 (2010).
- [9] Alonso, S.,Herrero, M.,Rendueles, M., Diaz, M., "Residual yoghurt whey for lactic acid production" *biomass and bioenergy*, v. 34, p.931-938 (2010).
- [10] Nancib, A., Nancib, N., Meziane-Cherif, D., Boubendir, A., Fick, M., Boudrant, J., "Joint effect of nitrogen sources and B vitamin supplementation of date juice on lactic acid production by *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus*" *Bioresource Technology*, v. 96, p.63-67 (2005).

مخمر استفاده کرد. طبق تحقیقات به عمل آمده و با استنباط از نتایج حاصل از این پروژه، ترکیب عصاره مخمر و سولفات آمونیوم، بهترین شرایط را از لحاظ تولیدی و اقتصادی رقم میزند.

مراجع

- [1] Plessas, S., Bosnea, L., Psarianos,C., Koutinas, A.A., Marchant, R., Banat, I.M., "Lactic acid production by mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* and *Lactobacillus helveticus*" *Biores. Technol.*, v. 99, p.5951-5955 (2008).
- [2] Nancib, N., Nancib,A., Boudjelal, A., Benslimane, C., Blanchard, F., Boudrant, J., "The effect of supplementation by different nitrogen sources on the production of lactic acid from date juice by *Lactobacillus casei* subsp. *Rhamnosus*" *Biores. Technol.*, v.78, p.149-153 (2001).
- [3] Roukas,T., and Kotzekidou,P, "Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lmtococcus Zactis* cells using fedbatch culture" *Enzyme Microbiol Technol.* , v.22, p.199-204, (1998).