مجله محیط شناسی، شماره ۳۴، بهار ۱۳۸۳، صفحه ۵۳-۴۷

تولید پیوسته و ناپیوسته اسید لاکتیک از آب پنیر با استفاده از لاکتوباسیل تثبیت شده

دکترغلامرضا نبی بید هندی *

پوریا بنی اردلان **

چکیده

تولید اسید لاکتیک از آب پنیر پروتئین زدایی شده ، توسط لاکتوباسیل تثبیت شده بر روی تراشه های چوب، مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا فرایند تثبیت بر روی حامل های مختلف همچون تراشه های چوب، خرده آجر و گوی شیشه ای متخلخل به روش جذب سطحی و بر روی پوسته تخم مرغ همراه با گلوتارآلدئید به روش پیوند کووالانسی انجام شد. از بین حامل های مختلف، تراشه های چوب بالاترین میزان جذب لاکتوباسیل را نشان داد و به عنوان بهترین حامل برای تولید انتخاب شد. تولید در سیستم ناپیوسته با چهار درجه حرارت و سه PH مختلف برای مدت ۵ روز انجام گردید و بالاترین میزان تولید اسید لاکتیک (۱۶ g/l) در $T = ۲۸^{o}\ C$ و PH = ۵/۵ مشاهده گردید. با بررسی بر روی سیستم نا پیوسته یک درجه حرارت و PH بهینه برای سیستم پیوسته انتخاب شد ($T = ۳۲^{o}C$ و PH = ۵). سیستم پیوسته به صورت یک ستون پر شده[۱] از لاکتوباسیل تثبیت شده روی تراشه های چوب طراحی شد. بالاترین میزان تولید اسید لاکتیک (۱۴g/l) در این سیستم با $D = ۰/۲\ hr^{-۱}$ بعد از ۵ روز مشاهده گردید.

کلید واژه

اسید لاکتیک، آب پنیر، لاکتوباسیل کازئی، تثبیت.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۱/۱۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۲/۴/۹

* استادیار دانشکده محیط زیست، دانشگاه تهران.

** دانش آموخته کارشناسی ارشد دوره عالی تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی.

سرآغاز

اسید لاکتیک به عنوان ماده ای اساسی در صنایع غذایی، دارویی و شیمیایی کاربردهای فراوانی دارد و سالانه به مقدار زیادی در جهان تولید می گردد. در حدود ۵۰٪ تولید این اسید توسط فرایند تخمیر انجام می شود. این فرایند تخمیری با استفاده از باکتری های هموفرمانتاتیو از منابعی که حاوی قند لاکتوز است، انجام می شود. آب پنیر به عنوان پساب کارخانه های پنیر سازی، از آلوده کننده های بالقوه محیط زیست است و بدون هیچ گونه تصفیه ای در محیط تخلیه می گردد. این پساب حاوی: لاکتوز، پروتئین کازئین، ویتامین های A, B_1, B_2, B و C و بیوتین ، نیاسین و نمک های معدنی است که می توانند کاربردهای فراوانی داشته باشند. یکی از این کاربردها استفاده از لاکتوز آب پنیر به عنوان ماده خام اولیه برای تولید اسید لاکتیک به روش تخمیری است.

تاکنون روشهای مختلفی برای تولید اسیدلاکتیک به روش تخمیر با استفاده از سلول های تثبیت شده مورد بررسی قرار گرفته است (Herbert et al., 1971). اما در اغلب این روشها از ژل های مختلف برای تثبیت سلول استفاده شده که با وجود جذب بالای سلولی گران نیز هستند(Krischke, 1991; Scragg, 1991 و Moo young, 1980) .

روش های دیگر شامل استفاده از حامل های جامد دارای منافذ مناسب جهت تثبیت سلول به روش جذب سطحی می باشند، ولی برای تولید اسید لاکتیک کمتر مورد استفاده قرار می گیرند. از این روش برای تثبیت سلول مخمر بر روی تراشه های چوب جهت تولید اتانول از آب پنیر استفاده شده است (Roukas & Kozedio, 1991; Zayed & Zahran, 1991 و Zayed & Winter, 1995). هدف در این تحقیق، تولید ناپیوسته و پیوسته اسید لاکتیک با استفاده از لاکتوباسیل کازئی تثبیت شده بر روی این گونه حامل هاست، بخصوص تراشه های چوب که ارزان، مناسب و در دسترس می باشند.

مواد و روشها

میکروارگانیسم و محیط کشت آن

لاکتوباسیل کازئی با شماره PTCC، ۱۶۰۸ تهیه شده از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران در محیط کشت مایع[۲] با شماره کاتالوگ مرک ۱۰۶۶۱ در دمای ۳۰°C برای مدت ۳ روز به عنوان پیش کشت، رشد داده شد. این محیط کشت با اضافه کردن پودر آگار- آگار به مقدار ۱/۵٪ به صورت مورب[۴] و همچنین به حالت کشت عمقی ایجاد گردید. برای رشد میکروارگانیسم به عنوان پیش کشت باید ۱۰۰ ml محیط کشت مایع MRS ساخته و در ۱۲۴ °C برای مدت ۱۵ دقیقه استریل گردد سپس توسط یک اریب[۳] از پیش رشد داده شده خنک گردیده و سوسپانسیون سلولی ایجاد و وارد ۱۰۰ ml محیط استریل گردد و برای مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۰°C قرار گیرد تا رشدکند. پس از رشد می توان سلول ها را با سانتریفوژ در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در مدت ۲۰ دقیقه استخراج کرد و با ۱۰۰ ml محیط کشت تازه، سوسپانسیونی آماده برای تثبیت را ساخت.

تثبیت میکروارگانیسم

دو روش ناپیوسته و پیوسته برای تثبیت لاکتوباسیل کازئی بر روی حامل ها مورد بررسی قرار گرفت (Balley & Ollis, 2000).

روش ناپیوسته

ابتدا باید ۱ gr حامل مورد نظر (تراشه ریز شده چوب معمولی، گوی شیشه ای متخلخل، خرده آجر) را در داخل یک ارلن ۲۵۰ ml ریخته و آن را در دمای ۱۲۴ °C برای ۲۰ دقیقه اتوکلاو کرد. ۱۰۰ ml سوسپانسیون سلولی آماده شده را وارد آن کرده و در انکوباتور با دمای ۳۰°C گذاشت و به فاصله چند ساعت آن را به آرامی تکان داد. بعد از ۲۴ ساعت آن را از انکوباتور خارج کرده و با محلول استریل گلوکز ۱٪ w/v شست تا سلول های آزاد موجود در سوسپانسیون از محیط عمل خارج و فقط سلول های تثبیت شده بر روی حامل ها در محیط باشند. بدین ترتیب سلول ها روی حامل ها تثبیت و آماده عمل تخمیر می شوند.

روش پیوسته

ابتدا باید حامل مورد نظر را در داخل ستون شیشه ای وارد کرد، به طوری که کاملاً پر شود، اما نه به‌طور فشرده تا باعث افت فشار در داخل ستون گردد. ابعاد ستون بستگی به شرایط طراحی سیستم پیوسته دارد. بعد از پر کردن ستون، باید لوله های ارتباطی را به آن متصل کرده و کل مجموعه را در دمای ۱۲۴ °C برای ۳۰ دقیقه اتوکلاو کرد. پس از خنک شدن ستون و لوله های ارتباطی باید ۱۰۰ ml سوسپانسیون سلولی آماده شده را توسط یک پمپ زمان دار[۴] از پایین ستون وارد و از بالای ستون خارج کرده و دوباره به داخل ظرف محتوی سوسپانسیون سلولی بر گرداند. مقدار شدت جریان پمپ باید طوری تنظیم شود که مقدار شدت رقیق سازی از ضریب رشد مخصوص لاکتوباسیل کازئی کمتر باشد ($D< \mu$) این عمل برای مدت

۲۴ ساعت انجام می شود، در این مدت ظرف محتوی سوسپانسیون سلولی باید دائماً توسط یک همزن الکتریکی مخلوط گردد تا از ته نشینی سلول جلوگیری شود . شرایط دمایی ۳۰ °C است. بعد از ۲۴ ساعت، فرایند قطع می گردد و ستون شیشه ای توسط محلول استریل گلوکز ۱٪ w/v با همان شدت رقیق سازی اولیه شسته می شود تا سوسپانسیون سلولی حاوی سلول های آزاد از داخل ستون خارج شود و فقط سلول های تثبیت شده بر روی حامل در درون آن باقی بمانند . بدین ترتیب ستون شیشه ای به عنوان یک راکتور با بستر پرشده[۱] آماده ورود آب پنیر و انجام عمل تخمیر است (Gonclaves & Barreto, 2002 و Hj Orloifsdottir, 2000)

این دو روش تثبیت بر اساس، روش جذب سطحی[۵] است اما برای پوسته تخم مرغ از روش پیوند کووالانسی با حضور ماده خارجی گلوتارآلدئید استفاده می شود. این نوع تثبیت به صورت زیر انجام می شود:

ابتدا پوسته تخم مرغ خرد و با الک مش ۴۰ صاف می گردد سپس چندین بار با آب مقطر شسته می شود و در آون ۴۰ °C خشک می شود. ۱۰۰ ml بافر سیترات – فسفات با PH = ۵/۸ ساخته شده و با ۲ ml گلوتارآلدئید غلیظ مخلوط می گردد تا یک محلول ۲٪ گلوتارآلدئید به دست آید. با نسبت ۱ به ۷ پوسته تخم مرغ و گلوتارآلدئید با هم مخلوط شده (۱۰ gr پوسته تخم مرغ و ۷۰ ml گلوتارآلدئید) و روی شیکر با دور ۱۰۰ cpm برای ۳۰ دقیقه در دمای ۳۰ °C قرار می گیرد. بعد از این مرحله باید سه بار پوسته تخم مرغ را با آب مقطر شست و سانتریفوژ کرد، سپس محلول فوقانی را دور ریخته تا اضافی گلوتارآلدئید که سمی است، خارج گردد. سوسپانسیون سلولی آماده شده را در داخل یک قیف جداکننده استریل ریخته و آن را قطره قطره به مخلوط پوسته تخم مرغ و گلوتارآلدئید که در داخل ۱۰ ml محیط کشت استریل (به ازاء ۱۰ gr پوسته تخم مرغ) درون یک ارلن استریل می باشد اضافه می گردد و آرام آرام روی یک شیکر که دور ۵۰ cpm دارد مخلوط می شود تا عمل تثبیت انجام گردد. بعد از تمام شدن سوسپانسیون موجود در قیف جداکننده، برای مدت ۳۰ دقیقه بهم زدن ادامه می یابد تا فرایند تکمیل شود. حال این مخلوط برای ۲۴ ساعت در دمای ۳۰ °C قرار داده می شود. بعد از این زمان باید سوسپانسیون سلولی اضافی را خارج کرده و پوسته تخم مرغ را با محلول استاندارد گلوکز ۱٪ w/v شست تا سلول های آزاد خارج شوند. بدین ترتیب سلول ها به وسیله گلوتارآلدئید بر روی پوسته تخم مرغ تثبیت می گردند.

آماده سازی آب پنیر

ابتدا آب پنیر به وسیله اتوکلاو در دمای ۱۲۴ °C برای ۳۰ دقیقه پروتئین زدایی می گردد . آب پنیر از پروتئین لخته شده به وسیله صافی جدا شده و مایع سبز کمرنگی حاصل می شود. PH اولیه آب پنیر سنجیده می شود (PH = ۴/۵) و توسط سود ۵ نرمال روی PH مورد نظر (۵/۵، ۶) تنظیم می گردد. بعد از تنظیم PH، دو ماده ضروری یعنی عصاره مخمر به مقدار ۲/۵ g/l برای رشد لگاریتمی لاکتوباسیل و یون Mn^{2+} به صورت H_2O، ۰/۱۸ $MnSo_4$ میلی مولار به سبب نقش مهم در هیدروژناسیون لاکتات به آن اضافه می گردد. در واقع با اضافه کردن این دو ماده آب پنیر اصلاح می گردد. این مقادیر توسط (Krischke et al., 1991 , 2001) مورد بررسی و تأیید قرار گرفته است. آب پنیر حاصل را باید در ۱۲۴°C برای ۱۵ دقیقه اتوکلاو کرده تا استریل گردد. در این زمان آب پنیر به دست آمده آماده برای مرحله تخمیر است.

شرایط تخمیر (فرمانتاسیون)

سیستم ناپیوسته: هر ۱۰۰ ml آب پنیر آماده سازی شده را باید وارد ارلن های ۲۵۰ ml، که در آنها ۱ gr حامل همراه با سلول های تثبیت شده است، در یک محیط استریل و در مقابل شعله وارد کرد. سپس سه ارلن ۲۵۰ ml با سه PH (۵ ،۵/۵ و ۶) برای آب پنیر آماده نمود، زیرا میکروارگانیسم تهیه شده در محیط کشت MRS که دارای PH = ۵/۵ است بهترین رشد را دارد، سپس برای بررسی بیشتر، مقادیر PH های اطراف آن یعنی ۵ و ۶ را نیز مورد بررسی قرار داد تا صحت عمل این نوع میکروارگانیسم اثبات گردد (Moo – young, 1980). در این مرحله محلول آماده شده درون انکوباتور با درجه حرارت مشخص گذاشته می شود. پس از آن برای مدت ۵ روز هر ۲۴ ساعت یک نمونه برداری انجام می شود و مقدار بازده تخمیر و اسید لاکتیک تولید شده اندازه گیری می گردد. فرآیند تخمیر در ۴ درجه حرارت (۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۵) انجام می گیرد.

سیستم پیوسته

این روش بدین ترتیب است که باید ۳۰۰ Ml آب پنیر آماده سازی شده را توسط پمپ زمان دار[۴] از پایین ستون شیشه ای، که در آن حامل های حاوی لاکتوباسیل کازئی تثبیت شده است وارد کرد، و از بالای ستون به مخزن دیگری که مربوط به محصول تولید شده است، خارج نمود. در این سیستم PH و دمای بهینه حاصل از سیستم

ناپیوسته به کار می رود. شدت جریان پمپ طوری تنظیم می شود تا مقدار D کمتر از مقدار ضریب رشد مخصوص لاکتوباسیل کازئی ($\mu = ۰/۲۵ \ hr^{-1}$) باشد تا ازعمل شست و شو[۶] جلوگیری شود. با توجه به این شرایط مقدار $D= ۰/۲ \ hr^{-1}$ در نظر گرفته می شود و با توجه به ابعاد ستون:

قطر داخلی (i.d) =۰/۹ Cm

ارتفاع (h) = ۱۶ Cm

حجم شدت (V) = ۱۰ ml

جریان ورودی ۲ ml/hr تنظیم می گردد.

روشهای اندازه گیری

مقدارقندلاکتوز موجود در آب پنیر توسط روش اسپکتروفتومتری سوموجی و تلسون (Herbert et al., 1971)، مقدار سلول های زنده آزاد و تثبیت شده توسط روش اسپکتروفتومتری در nm ۶۰۰ با استفاده از منحنی استاندارد جذب بر حسب وزن خشک (Sethuran et al., 2002; Tejaydis, 1999 و Scragg, 1991) و مقدار اسید لاکتیک توسط روش تیتراسیون بازگشتی و همچنین با استفاده از دستگاه HpLc با ستون های PRORPC C_1/C_s و SPHERSORB C_{18} با استفاده از ۰/۲ H_3PO_4 مولار به عنوان فاز متحرک و با شدت جریان ۰/۸ ml/min اندازه گیری شد(Scragg, 1991).

یافته ها

نتایج تثبیت

مقدار سلول های جذب شده بـــر روی حامل های گوناگون در شرایط یکسان اندازه گیری و نتایج در (جدول شماره ۱) مشخص گردیده. این نتایج نشان می دهد که تراشه های چوب بیشترین مقدار سلول را جذب می کنند و به عنوان بهترین حامل در این تحقیق انتخاب می شوند.

نتایج تخمیر نا پیوسته

مقدار بازده تخمیر آب پنیر و تبدیل آن به اسید لاکتیک توسط لاکتوباسیل کازئی تثبیت شـــده بر روی ورقه هـــای چوب در سیستم

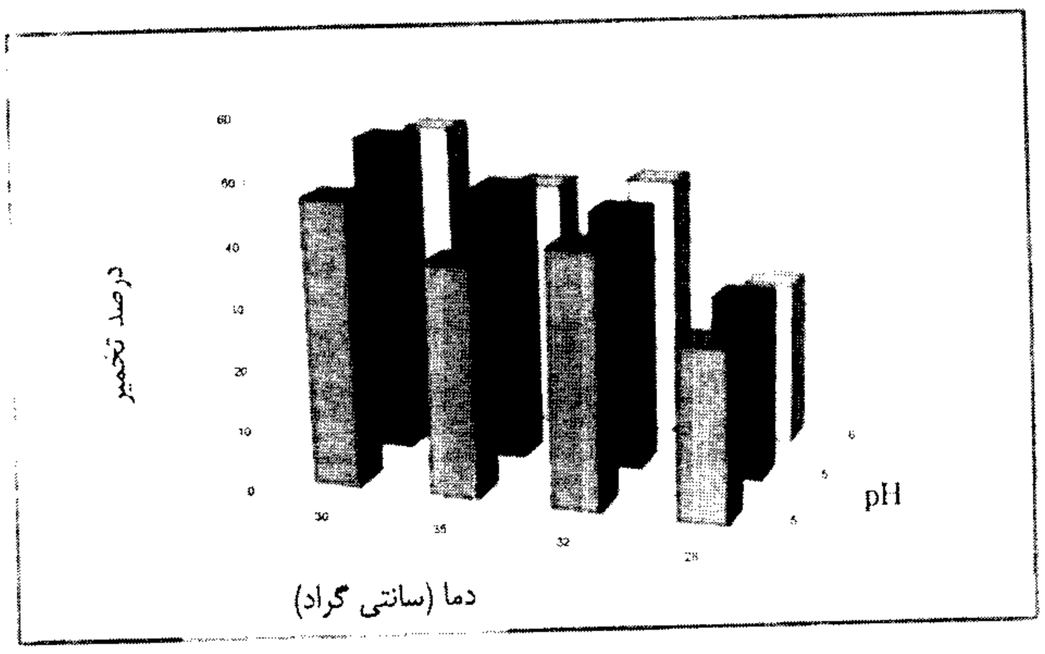
جدول شماره (۱): نتایج حاصل از تثبیت به دو روش ناپیوسته و پیوسته

نوع حامل	سیستم تثبیت (به ازای یک گرم حامل)	
	پیوسته (mg/g)	نا پیوسته (mg/g)
تراشه های چوب	۲۰۰	۱۵۰
خرد های آجر	۵۰	۲۰
گوی های شیشه ای متخلخل	۱۰۰	۸۰
پوسته تخم مرغ همراه گلوتارآلدئید	–	۸۵

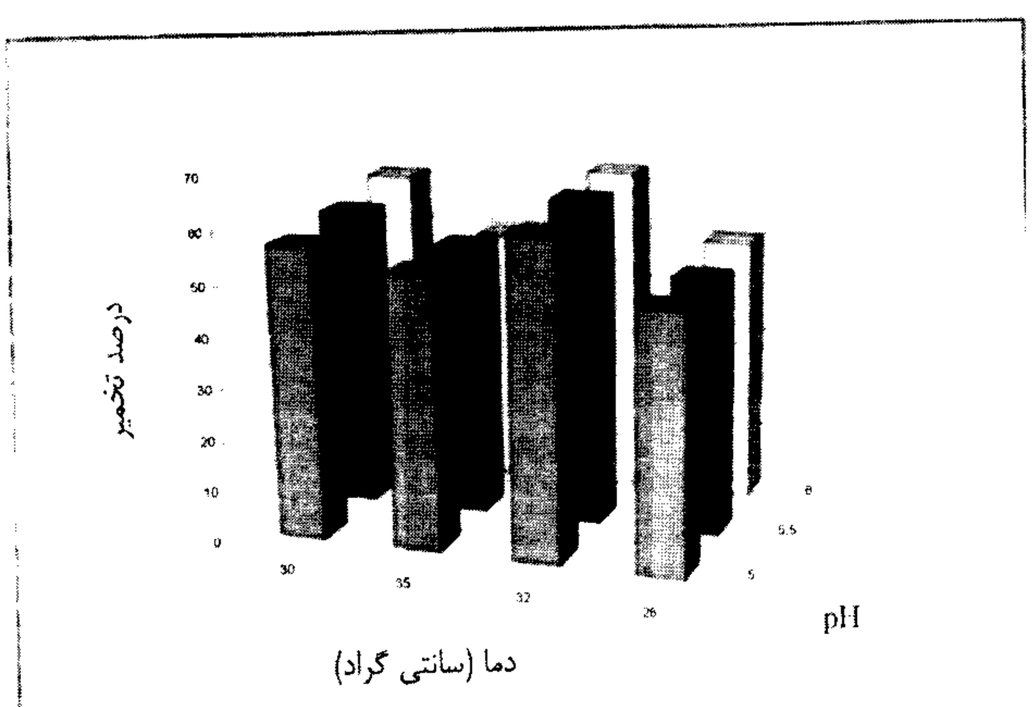
جدول شماره (۲): نتایج حاصل از راکتور ناپیوسته

زمان	دما	بازده تخمیر			غلظت اسید لاکتیک		
		pH = 5	pH = 5.5	pH = 6	pH = 5	pH = 5.5	pH = 6
۲۴	۲۸	۲۷/۹	۴۹/۷	۲۷	۵/۵۸	۵/۹۴	۵/۴
	۳۰	۴۶/۸	۵۴/۲	۵۰/۴	۹/۳۶	۱۰/۴۴	۱۰/۰۸
	۳۲	۴۱/۴	۴۲/۳	۴۳/۲	۸/۲۸	۸/۴۶	۸/۶۴
	۳۵	۳۷/۸	۴۵	۴۱/۴	۷/۵۶	۹	۸/۲۸
۴۸	۲۸	۴۹/۵	۴۹/۵	۵۱/۳	۹/۹	۹/۹	۱۰/۲۶
	۳۰	۵۶/۸	۵۸/۵	۶۱/۲۵	۱۱/۳۶	۱۱/۷	۱۲/۲۵
	۳۲	۶۱/۳	۶۳	۶۴	۱۲/۲۶	۱۲/۶	۱۲/۸
	۳۵	۵۳	۵۳	۵۰/۴	۱۰/۶	۱۰/۶	۱۰/۸
۷۲	۲۸	۶۷	۶۸	۶۷	۱۳/۴	۱۳/۶۸	۱۳/۴
	۳۰	۶۴/۸	۶۷/۵	۶۴/۸	۱۲/۹۶	۱۳/۵	۱۲/۹۶
	۳۲	۷۰/۲	۶۹/۴	۶۷/۵	۱۴/۰۴	۱۳/۸۸	۱۳/۵
	۳۵	۶۲	۶۲	۵۹/۵	۱۲/۴	۱۲/۴	۱۱/۹
۱۲۰	۲۸	۷۸/۴	۸۰	۷۸/۴	۱۵/۶۸	۱۶	۱۵/۶۸
	۳۰	۷۰/۳	۷۵/۷	۷۳/۹	۱۴/۰۶	۱۵/۱۴	۱۴/۷۸
	۳۲	۷۷/۵	۷۶/۵	۷۴/۷	۱۵/۵	۱۵/۳	۱۴/۹۴
	۳۵	۶۸/۵	۶۷/۵	۶۳	۱۳/۷	۱۳/۵	۱۲/۶

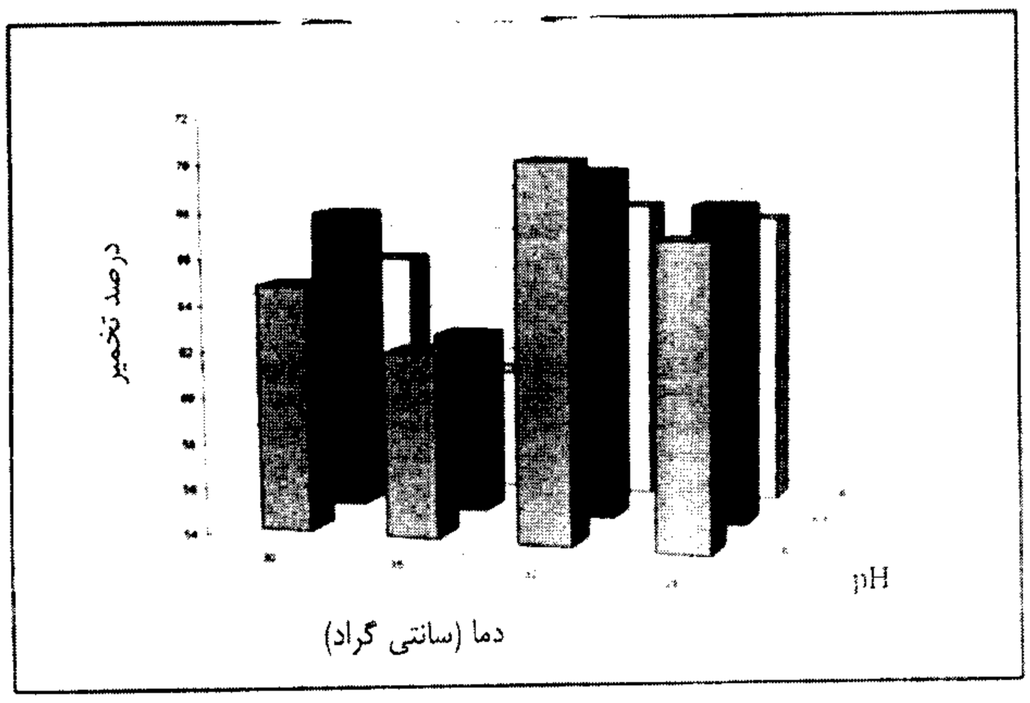
ناپیوسته با شرایط ساکن در چهار درجه حرارت و سه PH در (جدول شماره ۲) نشان داده شده است . این نتایج نشان می دهد که بالاترین درصد تخمیر بعد از گذشت پنج روز مربوط به T = ۲۸ °C و PH = ۵/۵ است، پس قاعدتاً باید به عنوان دما و PH بهینه برای سیستم پیوسته انتخاب شود، اما با بررسی دقیق تر نتایج مشاهده می شود که لاکتوباسیل کازئی خیلی آهسته با این شرایط سازگار می شود زیرا مقدار بازده تخمیر در این شرایط در زمان های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت کمتر از بازده تخمیر در سه درجه حرارت دیگر است و این نشان دهنده آن‌است که این نوع میکروارگانیسم خیلی کند به شرایط نسبتاً پایدار در T = ۲۸°C و PH = ۵/۵ می رسد. بنابراین استفاده از سیستم پیوسته، باعث خواهد شد که سیستم در زمان طولانی تری به حالت پایا[۷] برسد. بنابراین شرایط انتخاب شده برای رسیدن به بازده بالاتردر مدت زمان کوتاهتر برای سیستم پیوسته، دمای ۳۲°C و PH = ۵ است(شکل شماره ۱، الف– د نشان دهنده این نتیجه است).



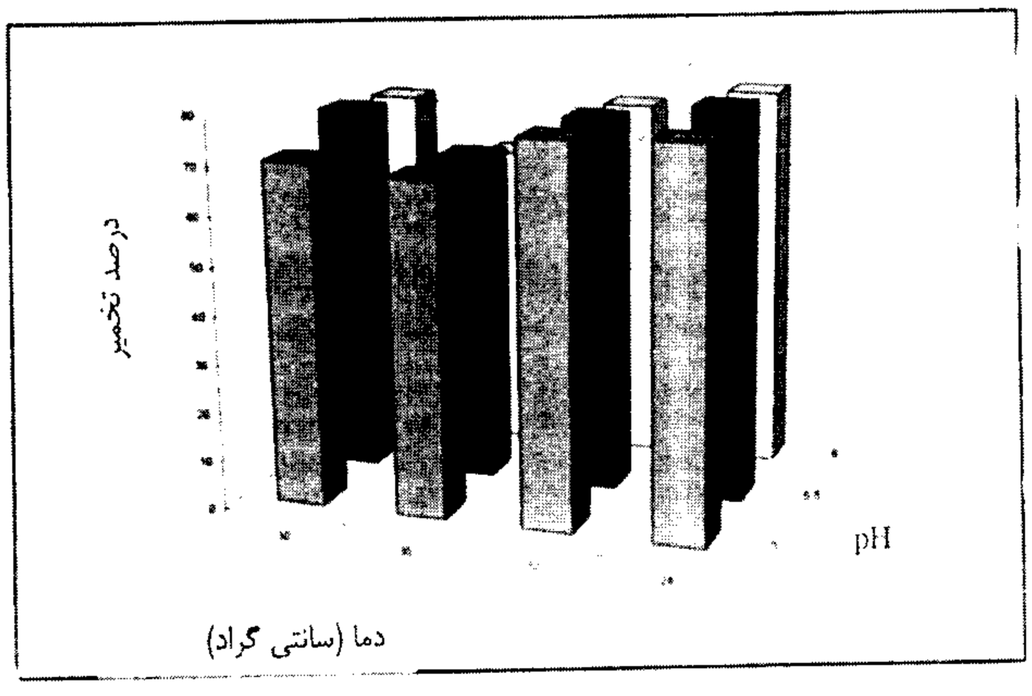
شکل شماره (۱– الف): نتایج تخمیر در راکتور ناپیوسته بعد از ۲۴ ساعت



شکل شماره (۱– ب): نتایج تخمیر در راکتور ناپیوسته بعد از ۴۸ ساعت



شکل شماره (۱–ج): نتایج تخمیر در راکتور ناپیوسته بعد از ۷۲ ساعت

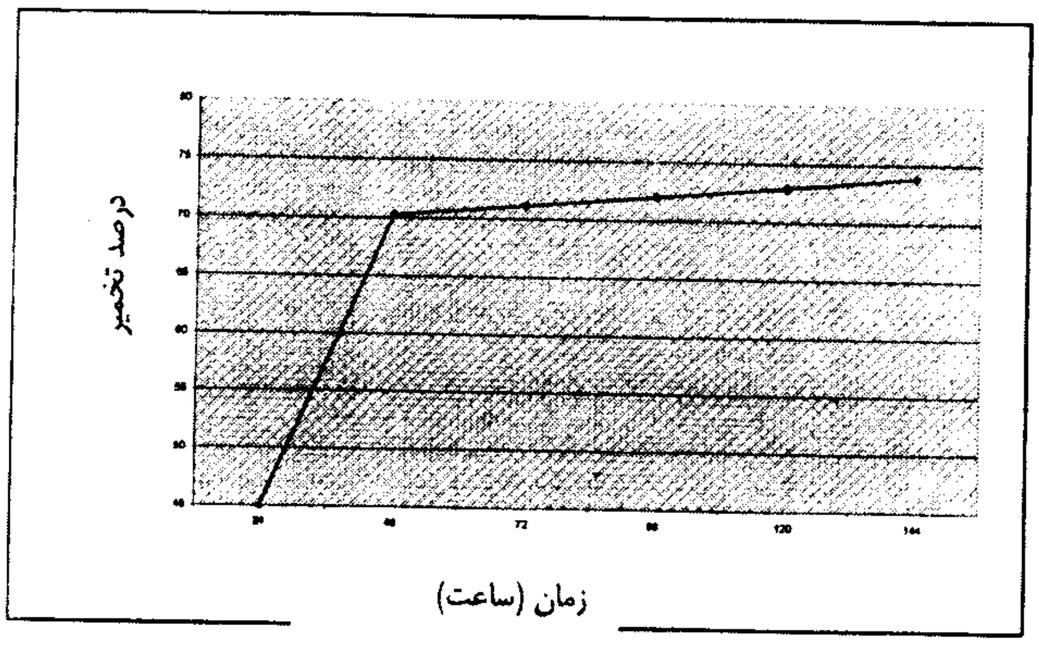


شکل شماره (۱–د): نتایج تخمیر در راکتور ناپیوسته بعد از ۱۲۰ ساعت

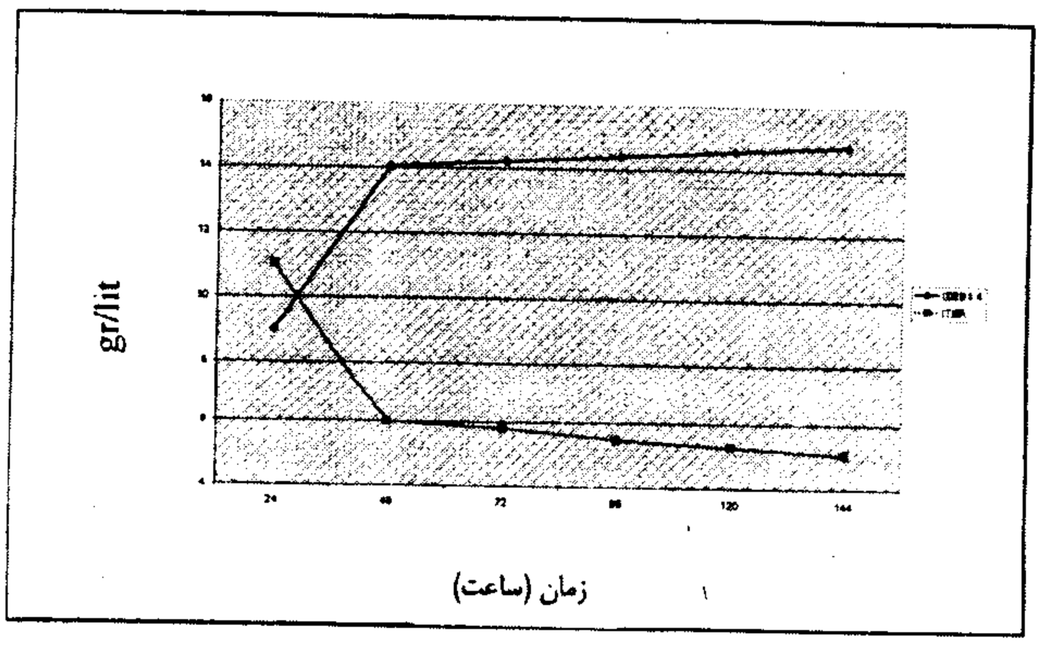
یافته های تخمیر پیوسته

این سیستم به صورت یک ستون پر شده[۱] از حامل های تراشه چوب که لاکتوباسیل بر روی آن تثبیت شده است و شرایط بهینه دما و PH حاصل از تخمیر نا پیوسته در آن اعمال می شود. میزان شدت جریان طوری انتخاب می گردد که ($D < \mu$) باشد تا از عمل شست و شو[۶] جلوگیری شود. در این صورت چون مقدار μ برای این گونه برابر $0/25\ hr^{-1}$ است، مقدار $D = 0/2\ hr^{-1}$ انتخاب می شود. اندازه گیری ها در طول عمل راکتور نیز نشان می دهد که هیچ گونه سلولی از راکتور خارج نمی شود . نتایج حاصل از سیستم پیوسته در (جدول شماره ۳) منعکس است.

نتایج راکتور پیوسته نشان می دهد که این سیستم پس از گذشت زمان ۴۸ ساعت به شرایط پایا[۷] می رسد (شکل های شماره ۲ و ۳).



شکل شماره (۲): نتایج تخمیر در راکتور پیوسته در (pH = ۵ و ۳۲°C)



شکل شماره (۳): تولید اسیدلاکتیک و مصرف لاکتوز در سیستم پیوسته

جدول شماره (۳): نتایج راکتور پیوسته

غلظت gr/l	درصد تخمیر	زمان
۹	٪ ۴۵	۲۴
۱۴/۵۰	٪۷۰/۲۶	۴۸
۱۴/۳۳	٪۷۱/۱۶	۷۲
۱۴/۴۱	٪۷۲/۰۶	۹۶
۱۴/۶۰	٪۷۲/۹۶	۱۲۰
۱۴/۷۷	٪۷۳/۸۹	۱۴۴

بحث و نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از عمل تثبیت روی حامل های گوناگون جدول شماره (۱) نشان می دهد که تراشه های چوب بالاترین مقدار لاکتوباسیل را جذب می کنند که حتی از روش کووالانسی پوسته تخم مرغ با گلوتارآلدئید بیشتر است. این نتیجه در مورد استوباکتر برای تولید اسید لاکتیک و در مورد مخمر برای تولید الکل نیز بدست آمده و نشان می دهد که ورقه های چوب حاملی بسیار مناسب برای تثبیت انواع گونه های میکروارگانیسم هستند. بالاترین میزان تولید اسید لاکتیک در سیستم نا پیوسته در دمای ۲۸°C و PH = ۵/۵ با ۸۰ درصد بازده تخمیر بود که در مقایسه با همین شرایط با سلولهای آزاد که فقط ۶۳٪ بازده تخمیر نشان می دهند، بالاست. این نتیجه نشان می دهد که فرایند تثبیت موجب افزایش میزان بازده گردیده است. از مهم ترین محاسن تثبیت سلولی، عدم تداخل میکروارگانیسم با محصول تولیدی است و دیگر نیازی به جداسازی محصول از میکروارگانیسم نمی باشد، از این رو به نظر می رسد روش تثبیت برای انتخاب مناسب است.

در سیستم پیوسته، میزان تولید اسید لاکتیک در دمای ۳۲°C و PH = ۵ به مقدار متوسط ۷۳٪ بازده تخمیر می رسد که در مقایسه با سیستم ناپیوسته ۴٪ کمتر است، اما مزیت این سیستم بر سیستم ناپیوسته آن است که در زمان یکسان مقدار بیشتری از آب پنیر را تبدیل می کند یعنی سرعت فرایند خیلی بیشتر از سیستم ناپیوسته است.

این تحقیق بعد از ۵ روز بر روی ml ۱۰۰ آب پنیر در سیستم ناپیوسته تخمیر انجام گرفت، در صورتی که سیستم پیوسته بر روی ml ۲۴۰ آب پنیر تخمیر انجام گرفت. از طرف دیگر می توان با افزایش D تا آنجایی که شست و شو[۶] رخ ندهد این میزان را افزایش داد . اگر تولید تحت شرایط یاد شده به صورت ناپیوسته انجام شود بهترین شرایط، T= ۲۸°C و PH= ۵/۵ است ولی اگر به صورت پیوسته انجام شود بهترین شرایط T= ۳۲ °C و PH= ۵ می باشد. میزان غلظت اسید لاکتیک تولیدی در سیستم ناپیوسته gr/L ۱۶ و در سیستم پیوسته g/L ۱۵ بود. این اختلاف ناچیز نیز تأثیری بر بهتر بودن سیستم تولید پیوسته نمی گذارد، زیرا نسبت به سیستم نا پیوسته به میزان دو برابر بیشتر آب پنیر را تبدیل می کند.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به دلیل تأمین منابع مالی، جهت انجام این تحقیق، کمال تشکر و قدردانی را داریم. همچنین از مسئولان و کارمندان محترم دانشکده محیط زیست دانشگاه تهران که امکانات و فضای مناسب برای انجام این تحقیق را در آن دانشکده فراهم کردند، صمیمانه سپاسگزاریم.

یادداشت ها

1- Packed-bed

2- MRS broth

3- Slant
4- Peristaltic
5- Adsorption
6- Wash out
7- Steady State

منابع مورد استفاده

Balley, J and Ollis, D. 2000. Biochemical Engineering fundamental Mc Grow– Hill.228 and 533.

Dunn, I. J. 1999. Methods for selection and growing mixed cultures in biofilm fluidized sand beds, methods in Enzmology IB5: 300– 307.

Gonclaves, L. M. D. and Barreto, M. T. O. 2002 Inert supports for lactic acid fermentation– alechnological assessment, Appl. Microbial. Biotechnology 38: 305–311.

Hj Orloifsdottir, S. et al., 2000. Effect on product formation in lactoccus lactis in continuous culture with complete cell recycling. Bioprocess. Eng. 6: 29-326.

Herbert,. D. et al., 1971. Chemical analysis of microbial cells, Methods in Microbiology, 5 B: 209-345.

Krischke, W. et al., 1991. Continuous production of L-lactic acid from whey permeate by Immobilized L. Case, Appl. Microbial. Biotech. 34: 573.

Krischke, W. et al., 2001. Continuous production of L.lactic acid from whey permeate by Immobilized L. Casei, App. Microbial. Biotechnol. 34:513-518.

Moo-young, M. 1980. Immobilization of yeast cells on various supports for ethanol production, Biotechnol. Letters Vol. 2. NO. 12. 541-548.

Roukas, T. and Kozekido. P. 1991. Production of lactic acid from deproteinized whey by co immobilized Lcasi and Liactis cells, Enzyme Microbe. Technoi. 13: 33– 38.

Scragg, A. H. 1991. Bioreactor in Biotechnology, Ellis Harwood, 12: 312.

Senthuran, A. et al., 2002. Lactic acid fermentation in a recycle batch reactor using immobilized L. Casei, Biotech. Bioeng. 55: 841- 852.

Tejaydis, C. M. 1999. Lactic acid from Cheese whey permeate, productivity and economics of a continuous membrance bioreactor, Appl. Microbial. Biotechnol. 43 : 242-248.

Zayed, G. and Winter, J. 1995. Batch and continuous production of lactic from salt whey using free and immobilizedss cultures of lactobacilli Appl. Microbial Biotechnol., 44:362- 366.

Zayed, G. and Zahran, .A. S. 1991. Lactic production from salt whey using free and agar immobilized cells, Letters in Appl. Microbe. 12: 241-243.