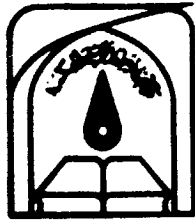


# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۳۳۷  
سازمان تعلیم و تربیت  
تألیف: ۱۳۱۵



017202

از اطلاعات این مرکز  
استفاده نکنید

# دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده فنی و مهندسی

پایان نامه کارشناسی ارشد  
مهندسی شیمی - بیوتکنولوژی

۱۳۸۱ / ۲ / ۱۰

تولید اسیدلاکتیک توسط میکروارگانیسم لاکتوباسیلوس کازنی و بهینه سازی  
شرایط خوراک در فرایند نیمه مداوم تخمیر آب پنیر

رویا رضایی رنجبر سرداری

۴۰۴۶۲

استاد راهنما:

دکتر ابراهیم واشقانی فراهانی

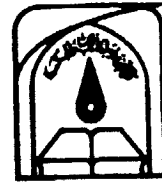
استاد مشاور:

دکتر سید عباس شجاع الساداتی

تابستان ۱۳۸۰

۴۰۴۶۲

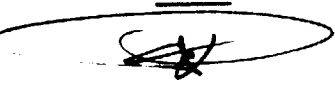



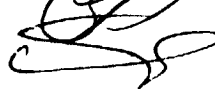
از اطلاع‌رسانی در این خصوص  
تشکر می‌گردد



دانشگاه تربیت مدرس

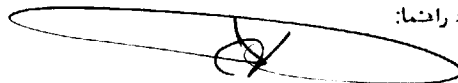
## تأییدیه هیات داوران

خانم رویا رضایی رنجبر سرداری پایان‌نامه ۹ واحدی خود را با عنوان **تولید اسیدلاکتیک توسط میکروارگانیزم لاکتو باسیلوس کازئی و بهینه‌سازی شرایط خوراک در فرایند نیمه مداوم تخمیر آب پنبه‌در تاریخ ۸۰/۷/۱۶** ارائه کردند. اعضای هیات داوران نسخه نهائی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوی تأیید و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد رشته مهندسی شیمی باگرایش بیوتکنولوژی پیشنهاد می‌کنند.

امضاء	نام و نام خانوادگی	اعضای هیات داوران
	آقای دکتر واشقانی فراهانی	۱- استاد راهنما:
	آقای دکتر شجاع‌الساداتی	۲- استاد مشاور:
	آقای دکتر توفیق	۳- استادان ممتحن:
	آقای دکتر شاه‌حسینی	۴- مدیر گروه:
	آقای دکتر زرین‌قلم	(یا نماینده گروه تخصصی)

این نسخه به عنوان سند رسمی در پایان‌نامه / رساله مورد تأیید است.

امضای استاد راهنما:





بسمه تعالی

وزارت فرهنگ و ارشاد اسلامی  
وزارت اطلاعات و ارتباطات  
وزارت بهداشت و درمان

## آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت های علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:  
کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده در رشته <sup>فلسفه</sup> فلسفه است  
که در سال ۱۳۸۰ در دانشکده <sup>فلسفه</sup> فلسفه دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم / جناب آقای دکتر <sup>ابراهیم</sup> ابراهیم <sup>دانشجوی</sup> دانشجوی، مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر <sup>عباس</sup> عباس <sup>فلسفه</sup> فلسفه و مشاوره سرکار خانم / جناب آقای دکتر <sup>عباس</sup> عباس <sup>فلسفه</sup> فلسفه از آن دفاع شده است.

ماده ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

ماده ۵ دانشجو تمهید و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶ اینجانب <sup>ریاضی</sup> ریاضی <sup>رشد</sup> رشد <sup>دانشجوی</sup> دانشجوی رشته <sup>فلسفه</sup> فلسفه مقطع <sup>کارشناسی ارشد</sup> کارشناسی ارشد تمهید فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: <sup>ریاضی</sup> ریاضی <sup>رشد</sup> رشد

تاریخ و امضا:

تقدیم به:

## پدر و مادر مهربانم

که وجودشان برایم همه مهر است و وجودم برایشان همه رنج. توانشان رفت تا به توانایی رسم و مویشان سپیدی گرفت تا روی سپید بمانم. در برابر وجود گرامیشان زانوی ادب بر زمین می نهیم و بر دستانشان بوسه میزنم،

## همسرم

که با صفایی بی وصف و فرهنگی علم جو مرا در راه رسیدن به مرحله ای از زندگانی ام یاری کردند،

و به امید زندگانی ام: **تینا**

## سپاس و ستایش خدای را که جان آدمی را به نور معرفت خویش مزین نمود.

بدینوسیله از زحمات و مساعدتهای بیدریغ وارزنده اساتید ارجمندجناب آقای دکتر  
ابراهیم واشقانی فراهانی استاد راهنما و جناب آقای دکتر سید عباس شجاع  
الساداتی استاد مشاور و سایر اساتید بخش مهندسی شیمی کمال تشکر دارم.  
همچنین از سرکار خانم فاطمه تیموری مسئول محترم آزمایشگاه بیو تکنولوژی ،  
آقای مهندس سید صفاعلی فاطمی، خانم مهندس پریسا حجازی و آقای مهندس  
محمد فرشیدی که در اجرای پایان نامه مرا یاری دادند سپاسگزارم.

## چکیده:

در این پژوهش، تولید (+)L-اسیدلاکتیک در فرایند نیمه مداوم تخمیر آب پنیر پروتئین گیری شده همراه با کنترل pH توسط باکتری لاکتو باسیلوس کازئی زیر گروه کازئی، مورد مطالعه قرار گرفته است. به منظور بهینه سازی شرایط فرایند تولید اسیدلاکتیک از یک روش طراحی آماری به نام روش تاگوچی استفاده شده است. در این روش اثر یک منبع نیتروژن، یک منبع کربن، نرخ خوراک دهی و اثر تووین ۸۰ بر روی محصول دهی بررسی شد. تحلیل آماری فرایند به این روش نشان داد که نرخ خوراک دهی مهمترین و موثرترین پارامتر در تولید اسید لاکتیک می باشد در شرایط بهینه در کشت خیرمداوم با کنترل pH، غلظت اسیدلاکتیک تولید شده در بیشترین مقدار برابر با ۱۸۷۸ g/L بود. در طول تولید اسیدلاکتیک در یک کشت نیمه مداوم بوسیله خوراک دهی با سرستزایی شامل لاکتوز تغلیظ شده، یک افزایش قابل توجه در غلظت لاکتوز باقی مانده به دست آمد. بیشترین مقدار اسیدلاکتیک تولید شده به روش نیمه مداوم ۳۲/۹۴ g/L بود. همچنین محصول دهی اسیدلاکتیک از ۰/۷۸ به ۱/۳۷ گرم بر لیتر بر ساعت افزایش یافت.

کلمات کلیدی: (+)L-اسید لاکتیک، آب پنیر، لاکتوباسیلوس کازئی، روش آماری تاگوچی، فرایند نیمه مداوم.

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

### فصل اول: مقدمه

۱..... مقدمه

### فصل دوم: مروری بر مطالعات و تحقیقات انجام شده

- ۵..... (۱-۲) اسید لاکتیک
- ۶..... (۱-۱-۲) کاربردهای اسید لاکتیک
- ۶..... (۲-۲) آب پنیر
- ۷..... (۳-۲) فرایندهای تولید تخمیری اسید لاکتیک
- ۱۲..... (۴-۲) فرایند نیمه مداوم
- ۱۲..... (۱-۴-۲) فرایند نیمه مداوم با حجم ثابت
- ۱۲..... (۲-۴-۲) فرایند نیمه مداوم با حجم متغیر
- ۱۳..... (۳-۴-۲) مریای راکتورهای نیمه مداوم
- ۱۵..... (۴-۴-۲) پارامترهای شروع و اتمام خوراک و توقف تخمیر نیمه پیوسته
- ۱۶..... (۵-۴-۲) دانش لازم برای انجام فرایند نیمه مداوم

### فصل سوم: تخمیر استخراجی اسیدهای الی

- ۱۸..... (۱-۳) تخمیر استخراجی اسیدهای الی
- ۲۵..... (۲-۳) استفاده از غشاها
- ۲۵..... (۱-۴-۳) الکترودیالیز
- ۲۶..... (۲-۴-۳) دیالیز نفوذی
- ۲۶..... (۳-۴-۳) جداسازی به وسیله غشای مایع
- ۲۷..... (۳-۳) سبب های دو فاز آبی
- ۲۸..... (۴-۳) جداسازی با استفاده از رزین تبادل یونی
- ۲۸..... (۱-۴-۳) رزین های تبادل یونی
- ۲۹..... (۲-۴-۳) حوض مبادله کننده ها



## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۲۹.....	۳-۴-۱) آماس رزین.....
۳۰.....	۳-۴-۲) ظرفیت رزین.....
۳۲.....	۳-۴-۳) تعادل نفوذ در رزین ها.....
۳۲.....	۳-۴-۴) تمایل نسبی رزین برای یونهای مختلف.....

### فصل چهارم: مواد و روش ها

۳۵.....	۴-۱) میکروارگانسیم.....
۳۷.....	۴-۲) آماده سازی آب پیر به عنوان محیط کشت.....
۳۷.....	۴-۲-۱) پروتئین گیری آب پیر.....
۳۸.....	۴-۲-۲) افزایش یون منگنر به آب پیر.....
۳۸.....	۴-۳) فرایند تخمیر.....
۴۰.....	۴-۴) مقدمه ای بر طراحی آزمایش ها به روش تاگوچی.....
۴۰.....	۴-۴-۱) بهینه سازی محیط کشت تولید اسید لاکتیک در فریند نیمه مداوم.....
۴۱.....	۴-۴-۲) افزودن تووین ۸۰ به محیط کشت.....
۴۲.....	۴-۴-۳) طراحی آزمایش ها به منظور بهینه سازی شرایط تولید اسید لاکتیک در فرایند نیمه مداوم.....
۴۴.....	۴-۵) انجام فرایند تخمیر تحت شرایط کنترل شده در فرمتور.....
۴۴.....	۴-۵-۱) وسایل و تجهیزات.....
۴۸.....	۴-۶) روشهای اندازه گیری.....
۴۸.....	۴-۶-۱) اندازه گیری غلظت سلونی.....
۴۸.....	۴-۶-۲) اندازه گیری غصت لاکتوز.....
۵۰.....	۴-۶-۳) اندازه گیری غصت اسید لاکتیک.....
۵۰.....	۴-۶-۳-۱) اندازه گیری غصت اسید لاکتیک به روش تیتراسیون.....

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

### فصل پنجم: بحث و نتایج

۵۲.....	۱-۵) فرایند غیر مداوم.....
۵۳.....	۲-۵) تولید اسید لاکتیک.....
۵۸.....	۳-۵) نتایج حاصل از اندازه گیری لاکتوز باقی مانده در محیط کشت در فرایند نیمه مداوم.....
۶۲.....	۴-۵) نتایج حاصل از تغییرات دانسیته سلولی و تحلیل آنها.....
۶۵.....	۵-۵) مقایسه فرایند تخمیر استخراجی با فرایند بدون تخمیر استخراجی در تولید اسید لاکتیک.....

### فصل ششم: نتیجه گیری و پیشنهاد

۶۷.....	۱-۶) مقایسه روش غیر مداوم و نیمه مداوم برای تولید اسید لاکتیک از آب پنیر.....
۶۹.....	۲-۶) پیشنهاد ها برای ادامه کار.....
۷۰.....	مراجع.....
۷۵.....	واژه نامه.....
۷۸.....	چکیده انگلیسی.....

## فهرست اشکال

صفحه

عنوان

- شکل ۱-۲) اسید لاکتیک تولید شده از آب پنیر پروتئین گیری شده در کشت نیمه مداوم..... ۹
- شکل ۲-۲) اثر نرخ خوراک دهی بر پارامترهای سینتیکی ..... ۱۰
- شکل ۱-۴) دستگاه های مورد استفاده در تخمیر استخراجی ..... ۴۷
- شکل ۱-۵) تغییرات دانسیته سلولی ..... ۵۳
- شکل ۲-۵) اثر پارامترهای مختلف بر تولید اسید لاکتیک در بررسی پارامترها به روش تاگوچی ..... ۵۶
- شکل ۳-۵) نتایج حاصل از اندازه گیری لاکتوز باقیمانده در محیط کشت در فرآیند نیمه مداوم با نرخ خوراک دهی ۰/۷ میلی لیتر بر دقیقه ..... ۵۹
- شکل ۴-۵) نتایج حاصل از اندازه گیری لاکتوز باقیمانده در محیط کشت در فرآیند نیمه مداوم با نرخ خوراک دهی ۱ میلی لیتر بر دقیقه ..... ۶۰
- شکل ۵-۵) نتایج حاصل از اندازه گیری لاکتوز باقیمانده در محیط کشت در فرآیند نیمه مداوم با نرخ خوراک دهی ۱/۴ میلی لیتر بر دقیقه ..... ۶۱
- شکل ۶-۵) نتایج حاصل از تعمیرات دانسیته سلولی با تغییرات نرخ خوراک دهی در فرآیند نیمه مداوم با خوراک دهی در فرآیند نیمه مداوم شامل ۷۵ g/L لاکتوز ..... ۶۲
- شکل ۷-۵) نتایج حاصل از تعمیرات دانسیته سلولی با تغییرات نرخ خوراک دهی در فرآیند نیمه مداوم با خوراک دهی در فرآیند نیمه مداوم شامل ۱۰۰ g/L لاکتوز ..... ۶۳
- شکل ۸-۵) نتایج حاصل از تعمیرات دانسیته سلولی با تغییرات نرخ خوراک دهی در فرآیند نیمه مداوم با خوراک دهی در فرآیند نیمه مداوم شامل ۱۵۰ g/L لاکتوز ..... ۶۴
- شکل ۹-۵) مقایسه فرآیند تخمیر استخراجی با فرآیند بدون استخراجی در تولید اسید لاکتیک : (۰) تخمیر استخراجی (۱) بدون تخمیر استخراجی ..... ۶۵

## فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲) مقایسه غیرمداوم و نیمه مداوم در تولید اسید لاکتیک از آب پنیر پروتئین گیری شده توسط مخلوطی از <i>L.lactis</i> و <i>L.casei</i> .....	۸
جدول ۱-۳) اسیدهای آلی تخمیری و مقادیر pKa آنها.....	۱۹
جدول ۱-۴) ترکیب محیط کشت ذخیره.....	۳۶
جدول ۲-۴) شرایط بهینه در فرآیند غیرمداوم.....	۳۹
جدول ۳-۴) انتخاب پارامترهای موثر بر اسید لاکتیک و رشد <i>Lactobacillus casei</i> کازنی.....	۴۲
جدول ۴-۴) آرایه <i>L</i> تاگوچی.....	۴۳
جدول ۱-۵) تغییرات دانسیته سلولی، غلظت لاکتوز باقی مانده و میزان اسید لاکتیک تولید شده در طی فرایند تخمیر غیر مداوم آب پنیر در طول ۲۴ ساعت از شروع تخمیر.....	۵۲
جدول ۲-۵) غلظت نهایی اسید لاکتیک تولید شده (g/L) توسط <i>Lactobacillus casei</i> از آب پنیر پروتئین گیری شده در آزمایش <i>L</i> تاگوچی.....	۵۴
جدول ۳-۵) اثرات اصلی پارامترها برای تولید اسید لاکتیک.....	۵۵
جدول ۴-۵) آنالیز واریانس (ANOVA) و تحلیل نتایج برای بهینه کردن شرایط تولید اسید لاکتیک.....	۵۷
جدول ۵-۵) شرایط بهینه خوراک برای تولید اسید لاکتیک در روش نیمه مداوم.....	۵۷
جدول ۱-۶) مقایسه نتایج روش غیر مداوم و نیمه مداوم در تولید اسید لاکتیک.....	۶۸

# فصل اول

## مقدمه

اسید لاکتیک محصول یک تخمیر بی هوازی است با بازده و حجم محصول دهی بالا بر روی کربوهیدرات‌ها بعنوان سوبسترا. درین خیلی از کربوهیدرات‌ها که برای تولید اسید لاکتیک استفاده میشود لاکتوز آب پنیر توجه خاصی به خود جلب کرده است. آب پنیر یک ماده سالم، مغذی و با پتانسیلی برای آلودگی محیط زیست است. این ماده در تولید پنیر از شیر جدا میگردد و همراه با آب و ۵% -۴ لاکتوز، پروتئین، ویتامین‌ها و نمک‌های معدنی است. تهیه اسید لاکتیک از آب پنیر از دو جهت مورد توجه محیط زیست است، از یک سو با استفاده از پساب صنایع پنی‌سازی موجبات هضم پساب این صنعت و کاهش مصرف بیولوژیکی اکسیژن<sup>۱</sup> فراهم شده و از سوی دیگر ماده تولید شده به عنوان مونومر در تهیه پلیمرهای زیست تخریب پذیر به کار میرود. استفاده از این گونه پلیمرهای زیست تجزیه پذیر به جای پلیمرهای تجزیه ناپذیر در تولید بعضی از محصولات تا حد زیادی باعث کاهش بار آلودگی محیط زیست میشود.

تاکنون تولید اسید لاکتیک از طریق تخمیر به روش غیر مداوم با محصول دهی پائین صورت می گرفته است. در سالهای اخیر مطالعه بررسی تبدیل قندها به اسید لاکتیک به منظور بدست آوردن میزان محصول دهی بالا انجام شده است. از جمله این مطالعات و آزمایشها تغییر روش نایوسه به نیمه پیوسه و پیوسه است.

---

<sup>۱</sup> - Biological Oxygen Demand

در این مطالعه با استفاده از روش نیمه پیوسته<sup>۱</sup> آزمایشها به سمت افزایش غلظت بیوس و نیز نتیجه بالا بردن میزان محصول سوق داده میشود.

کشت نیمه پیوسته یک کشت ناپیوسته است که حوراک به صورت مداوم وارد میشود. چون اینک از فرمتور ماده ای خارج شود. از طرفی چون تخمیر لاکتیک واکنشی محدود شده توسط خود محصول است و در حضور اسید رشد محدود نمیشود از لاکتوز موجود در آب پنیر تخمیر نشود. قی میماند و بازدهی تولید محصول کاهش می یابد، لذا کنترل خودکار pH مورد توجه قرار گرفت.

باتوجه به مطالب بیان شده در بالا تولید اسید لاکتیک نوع (+) L از آب پنیر در فرایه تخمیر نیمه پیوسته و تعیین شرایط بهینه تولید هدف اصلی این مطالعه قرار گرفت. نحوه تنظیم پایه نامه بدین صورت است که ابتدا در این فصل بعنوان مقدمه اهداف کلی انجام این مطالعه بیان شده است. سپس در فصل دوم مطالب تئوری در مورد اسید لاکتیک، آب پنیر و فرآیندهای تخمیری بررسی شده و در فصل سوم تخمیر استخراجی بیودی آلی بیان گردیده است. روشهای آزمایش در فصل چهارم توضیح داده شده است. پس از آن نتایج و بحث در فصل پنجم، در فصل ششم نتیجه گیری نهایی از این پژوهش ارائه خواهد شد.

به امید آنکه با انجام این پایان نامه گامی در جهت آبادانی کشور برداشته شود.