



جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

إنتاج حامض اللاكتيك من الشرش باستعمال مزرعة
مختلطة من بكتريا حامص اللاكتيك الحرة والمقيدة

سحر عدنان شيت الحمداني

أطروحة دكتوراه

في

علوم الأغذية (علوم الأغذية)

بإشراف

الدكتور وليد أحمد محمود

أستاذ

الخلاصة

تم إنتاج حامض اللاكتيك من شرش جبن الحليب الجاموسي باستخدام مزرعة مختلطة لبكتريا *Lactobacillus delbrueckii* و *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* و *subsp. bulgaricus* الحرة والمقيدة ودرست بعض العوامل المؤثرة في إنتاجية الحامض وفي نمو البكتريا ممثلاً بالوزن الجاف للكتلة الحيوية.

بينت نتائج التجارب التي أجريت بطريقة الوجبات وباستعمال الخلايا الحرة حصول زيادة معنوية في إنتاجية الحامض باستعمال المزرعة المختلطة للنوعين مقارنة بالمزرعة النقية لكل منهما. وجد أن مستخلص الخميرة (12 غم/لتر) واللاكتوز (15 غم/لتر) كانا أفضل المصادر النتروجينية والكاربونية المضافة لغرض زيادة إنتاج الحامض والكتلة الحيوية، وعلى التوالي. أدت إضافة كبريتات المغنيسيوم بتركيز 0,35 غم/لتر وكبريتات المنغنيز بتركيز 0,05 غم/لتر إلى زيادة معنوية في إنتاج الحامض والكتلة الحيوية. تم الحصول على أقصى إنتاج لحامض اللاكتيك ووزن الكتلة الحيوية بإضافة لقاح مزيج البكتريا بتركيز 10×10^7 خلية/مل وبعمر 24 ساعة. تم الحصول على أعلى إنتاج للحامض عند ضبط الدالة الحامضية الابتدائية لوسط الإنتاج عند 5,5 وبفروق غير معنوية في المدى 5-6,5. بينما وصل أقصى نمو للبكتريا عند الدالة الحامضية 6 وبفروق غير معنوية أيضاً في المدى 5-6,5. وجد أن مدة التخمر 48 ساعة كانت المفضلة لإنتاج الحامض وكانت الزيادة في الإنتاجية غير معنوية عند تجاوز هذه المدة. تم الحصول على أقصى وزن للكتلة الحيوية بعد 56 ساعة من التحضين.

تم تقييم مزيج نوعي البكتريا في حبيبات هلام الجينات الكالسيوم ودرس تأثير بعض العوامل في كل من كفاءة التقييد وإنتاجية حامض اللاكتيك بطريقة الوجبات. أظهرت النتائج أن التركيز 2% من ألجينات الصوديوم في معلق الخلايا قد أعطى أعلى كفاءة تقييد وأفضل إنتاج من حامض اللاكتيك وبفروق معنوية عن التركيزين الآخرين (1 و 3%). تم الحصول على أعلى كفاءة تقييد وإنتاجية للحامض باستعمال كلوريد الكالسيوم بالتركيزين 5 و 4%، وعلى التوالي. تم الوصول إلى أعلى كفاءة تقييد وإنتاجية للحامض عند استعمال حبيبات هلام ذات أقطار 3 ملم. وجد أن مدة تصلب الحبيبات 45-60 دقيقة كانت مناسبة للحصول على كفاءة تقييد وإنتاجية جيدة من الحامض. بينت النتائج أن التركيز المنخفض من اللقاح البكتيري (5×10^7 خلية/مل) كان مفضلاً للحصول على كفاءة تقييد عالية والتي انخفضت معنوياً بزيادة تركيز اللقاح بسبب الكثافة العالية للخلايا في الحبيبات والتي أدت إلى زيادة نسبة الخلايا المتسربة إلى الخارج. أما بالنسبة لحامض اللاكتيك فقد تم الحصول على أعلى إنتاجية باستعمال تركيز لقاح 20×10^7 خلية/مل وبفروقات غير معنوية ضمن المدى 10-25 $\times 10^7$

خلية امل. تم تكرار استعمال الخلايا المقيدة في إنتاج الحامض أربع مرات متتالية ولوحظ حصول انخفاض معنوي في إنتاجية الحامض في دورات الانتاج المتعاقبة. تم إجراء مقارنة لإنتاجية الحامض بين الخلايا الحرة والخلايا المقيدة ولوحظ تفوق الحرة معنوياً في الإنتاجية. إن هذا التفوق لايعني أفضلية الخلايا الحرة في عمليات التخمير، إذ تبقى لتقنية التقييد أهميتها الكبيرة وفوائدها الكثيرة المعروفة.

استعملت الخلايا المثبتة في إنتاج حامض اللاكتيك من الشرش باستعمال الطريقة المستمرة في عمود فصل زجاجي (23 مل) ودرس تأثير كل من معدل السريان (5-60 مل/ساعة) والدالة الحامضية (5-7) في إنتاج الحامض. لوحظ وجود تأثير سلبي لمعدل السريان العالي في تركيز الحامض المنتج وتأثير إيجابي في معدل الإنتاج. بينت النتائج أن استعمال معدل السريان العالي في الإنتاج مع إعادة تدوير الشرش في العمود كان مفضلاً في عملية التخمير. تم الحصول على أقصى إنتاج من الحامض بعد ضبط الدالة الحامضية للشرش الداخل في العمود عند 6. لغرض التعرف على مدة صلاحية الخلايا المقيدة في العمود تم إمرار الشرش في العمود بمعدل سريان 60 مل/ساعة وتبين احتفاظ الخلايا المقيدة بكامل فعاليتها خلال الـ 48 ساعة الأولى من الانتاج وانخفضت إلى 62,3% بعد 120 ساعة ثم فقدت الخلايا كل فعاليتها بعد 200 ساعة من العمل المستمر.

SUMMARY

Lactic acid was produced from cheese whey of buffalo's milk by a free and immobilized mixed culture of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. Some factors affecting acid productivity and bacterial growth, expressed as dry biomass weight, were studied.

Results of batch process using free cells showed a significant increase in acid production upon using the mixed culture as compared to pure culture of each species. Yeast extract (12 gm/l) and lactose (15 gm/l) were found the best added nitrogen and carbon sources for enhancing acid and biomass production, respectively. Addition of magnesium sulphate (0.35 gm/l) and manganese sulphate (0.05 gm/l) had significantly increased lactic acid and biomass production. Maximum lactic acid production and biomass weight were obtained upon addition of the inoculum with a concentration of 10×10^7 cell/ml and age of 24 hours. Optimum initial pH of whey for acid production was 5.5 with non-significant differences in the range of 5-6.5, while optimum pH for bacterial growth was 6 with non-significant differences in the range of 5-6.5. Incubation time of 48 hours was found suitable for acid production since the increment beyond this time was non-significant. Maximum biomass weight was achieved after 56 hours of incubation.

A mixture of the two bacterial species was immobilized in calcium alginate gel beads. The effect of some factors on immobilization efficiency and lactic acid production using batch process was studied. Results indicated that the concentration of 2% sodium alginate in the cells suspension resulted in maximum immobilization efficiency and acid production with significant differences from the other used concentrations (1 and 2%). Maximum immobilization efficiency and acid productivity were obtained upon using calcium chloride with concentrations of 5 and 4%, respectively. Beads diameter of 3 mm resulted in the highest immobilization efficiency and acid

productivity. 45-60 minutes of beads solidification time were found suitable to obtain high immobilization efficiency and lactic acid productivity. Results showed that low inoculum concentration (5×10^7 cell/ml) was preferred for obtaining the highest immobilization efficiency, which was significantly dropped upon increasing inoculum concentration. This may be due to the high cells density in the beads which caused increasing cells leakage. Maximum lactic acid production was obtained by using inoculum concentration of 20×10^7 cell/ml with non-significant differences over the range of 10 - 25×10^7 cell/ml. Immobilized cells were reused for four runs and a significant loss in activity was observed during the successive runs. A comparison between the productivity of free and immobilized cells showed a significant superiority of free cell against immobilized cells.

Immobilized cells were used in lactic acid production from whey by using continuous fermentation in a glass column (23 ml). The effects of flow rate (5-60 ml/hr) and pH (5-7) on lactic acid production were studied. Results showed a negative effect of high flow rate on produced acid concentration, and a positive effect on acid production rate. It was noticed that using high flow rates with repeated recycling of whey in the column is preferred in the fermentation process. Maximum acid production was obtained when whey pH was adjusted to 6. In order to determine validity time of immobilized cells in the column, a flow rate of 60 ml/hr was used. Cells were found to retain all activity throughout the first 48 hours and dropped to 62.3% after 120 hours. However, cell had lost all activity after 200 hours of continuous work.

University of Mosul

College of Agriculture and Forestry



**PRODUCTION OF LACTIC ACID FROM
WHEY USING A MIXED CULTUER OF
FREE AND IMMOBILIZED LACTIC ACID
BACTERIA**

Sahar Adnan Sheet Al-Hamdany

PhD Dissertation

Food Sciences

Supervised by

Dr. Waleed Ahmad Mahmood

Professor

2020 A.D

1441 A.H