بهینه سازی شرایط تولید اسید لاکتیک در فرایند غیر مداوم تخمیر آب پنیر توسط باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*

محمد صادق عبدالعلی زاده[1]، ابراهیم واشقانی فراهانی[2*]، مهوش خدابنده[3]، سمیره هاشمی نجف آبادی[4]

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد، بخش مهندسی شیمی، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه تربیت مدرس

2- استاد گروه بیوتکنولوژی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه تربیت مدرس

3- استادیار گروه بیوتکنولوژی صنعتی و محیط زیست، مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی

4- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه تربیت مدرس

(تاریخ دریافت: 87/7/7 تاریخ پذیرش:88/4/28)

چکیده

بدلیل مصرف فراوان اسید لاکتیک و مشتقات آن، در سال های اخیر مطالعات زیادی به منظور تولید این اسید آلی صورت گرفته است. در این پژوهش، شرایط تولید اسید لاکتیک از آب پنیر پروتئین گیری شده در یک فرایند تخمیر غیر مداوم توسط *لاکتوباسیلوس کازئی* مورد مطالعه قرار گرفته و به منظور بهینه سازی شرایط محیط کشت، از روش تاگوچی استفاده شد. 4 غلظت مختلف برای منابع ازت؛ عصارهٔ مخمر، پپتون و سولفات آمونیوم؛ و 3 سطح برای دما و دور همزن انتخاب شد. در شرایط بهینهٔ تعیین شده با تحلیل های تاگوچی، در یک فرایند غیر مداوم و بدون کنترل pH، پس از گذشت 24 ساعت گرماگذاری نمونه ها، 12/5 گرم بر لیتر اسید لاکتیک بدست آمد.

کلید واژگان: (+)L- اسید لاکتیک، آب پنیر، *لاکتوباسیلوس کازئی*، طراحی آزمایش و روش تاگوچی

1- مقدمه

بدلیل مصرف فراوان اسید لاکتیک و مشتقات آن در صنایع غذایی، نساجی، دارویی، آرایشی، شیمیایی و خصوصاً پلیمری، در سال های اخیر مطالعات زیادی به منظور تولید این اسید آلی صورت گرفته است. علاوه براین، اسید لاکتیک می تواند از طریق واکنش های شیمیایی به مواد مفیدی، مانند پروپیلن اکسید، پروپیلن گلیکول و استر لاکتات تبدیل شود. ساخت پلی لاکتیک و اکریلیک اسیدهای زیست تخریب پذیر نیز بازار مهمی برای اسید لاکتیک خالص ایجاد کرده است. اسید لاکتیک که به دو شکل فعال نوری (-)D و (+)L وجود دارد، با واکنش شیمیایی، توسط آبکافت لاکتونیتریل و فرایندهای تخمیر میکروبی تولید می شود. نوع (+)L، از آنجائی که در سوخت و ساز طبیعی انسان نیز وارد می شود، ترجیح داده می شود. اما فرایند شیمیایی آن، فقط مخلوط راسمیک (DL) را تولید می کند. *لاکتوباسیلوس کازئی*[1] که یک باکتری گرم مثبت بی هوازی اختیاری است، فقط نوع

* مسئول مکاتبات: evf@modares.ac.ir

1. *Lactobacillus casei*

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]

L(+) را تولید می کند. پلی L(+)- لاکتیدها در حال حاضر برای ساخت وسایل پزشکی پیوندی گران قیمت مصرف می شوند. بنابراین، ضرورت به حداقل رساندن هزینه ها و بهینه سازی شرایط تولید کاملاً مشهود است [3- 1].

از مشخصات ریزسازواره های صنعتی برای تولید اسید لاکتیک، می توان به توانایی در تخمیر سریع و کامل مواد خام ارزان، نیاز به حداقل میزان مواد نیتروژنی و بازدهی بالا برای تولید محصول اشاره کرد [4]. مواد خام، بخش عمده ای از هزینه های منابع اولیه را در فرایندهای زیستی به خود اختصاص می دهند. تاکنون انواع کربوهیدرات ها و مواد نیتروژنی برای تولید اسید لاکتیک به کار رفته اند. انتخاب ماده اولیه ای که مصرف می شود، به ریزسازواره و محصول مورد نظر بستگی دارد. سوکروز، مالتوز، گلوکز، مانیتول و غیره به صورت تجاری استفاده شده اند. ملاس ارزان است، اما بازدهی کمی برای تولید اسید لاکتیک دارد. ذرت، کاه، پوست دانهٔ پنبه و غیره نیز بررسی شده اند. لاکتوز آب پنیر به طور ویژه ای مورد توجه قرار گرفته است. آب پنیر، محصول جانبی صنایع پنیر سازی، یک آلایندهٔ محیطی بالقوه است که حاوی مواد مغذی پیچیده ای برای باکتری ها می باشد. آب پنیر حاوی لاکتوز شیر، پروتئین ها، ویتامین ها و نمک های معدنی است و بدلیل ارزان بودن، منبع خوبی برای تولید میکروبی اسید لاکتیک است. تخمیر ناپیوسته هنوز رایج ترین روش تولید صنعتی اسید لاکتیک از آب پنیر، با استفاده از باکتری اسیدلاکتیک است، گرچه بدلیل مهار محصول نهایی، به تولید نسبتاً پایین محدود می شود [1-5].

سابقهٔ پژوهش های انجام شده در این زمینه عبارتند از: تولید غیر مداوم اسید لاکتیک از لاکتوز و بررسی اثر افزودن منابع مختلف ازت [6 و 7]؛ بررسی میزان تولید L(+) و D(-)- اسید لاکتیک با استفاده از لاکتو*باسیلوس کازئی* [8 و 9]؛ تولید L(+)- اسید لاکتیک با استفاده از لاکتو*باسیلوس کازئی* و بررسی اثر منابع مختلف ازت و دما بر آن [10]؛ تولید اسید لاکتیک در فرایند غیر مداوم و مداوم همراه با برگشت مجدد سلول و محیط کشت به فرمنتور [11]؛ بررسی تخمیر ناپیوسته برای ارزیابی قابلیت های منابع پیچیدهٔ نیتروژن، در تولید اقتصادی تر اسید لاکتیک [12]؛ تولید پیوسته و ناپیوسته اسید لاکتیک از آب پنیر، با استفاده از لاکتوباسیل تثبیت شده [13]؛ تولید اسید لاکتیک در یک فرمنتور بستر متخلخل، همراه با تثبیت سلول [14]؛ مطالعهٔ تأثیر منابع مختلف ازت و ویتامین B بر تولید اسید لاکتیک [15]؛ بررسی اثر شدت رقیق سازی بر درصد تولید دو ایزومر L(+) و D(-)- اسید لاکتیک [16 و 17]؛ و تولید ارزان قیمت اسید لاکتیک با استفاده از پوستهٔ برنج، به عنوان تنها منبع کربن در تخمیر حالت جامد [18].

در این پژوهش، به منظور تعیین شرایط بهینهٔ تولید اسید لاکتیک، توسط کشت باکتری لاکتو*باسیلوس کازئی* بر روی محیط آب پنیر، از روش طراحی آماری تاگوچی [19] برای بررسی سه نوع منبع ازت مختلف، دما و دور همزن استفاده شده و تأثیر هر یک از متغیرها بر تولید اسید لاکتیک ارزیابی شده است.

2- مواد و روش ها

ریز سازواره[1]: در این پژوهش از باکتری لاکتو*باسیلوس کازئی* (RICC 1267)، اهدائی از طرف مؤسسهٔ تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی استفاده شد.

محیط کشت: ریزسازواره بر روی محیط کشت MRS که به جای گلوکز، حاوی لاکتوز است، کشت داده شد. پس از گذشت مدت زمان های 24، 48 و 72 ساعت، میزان لاکتوز موجود در محیط کشت اندازه گیری شد. به منظور تهیهٔ کشت ذخیره[2]، به ظروف یک میلی لیتری حاوی ریزسازوارهٔ رشد کرده در محیط کشت MRS، 20 درصد حجمی گلیسرول اضافه شده و در دمای ºC 70- نگهداری شد. برای تهیهٔ پیش کشت[3]، با توجه به میزان مورد نیاز، 100 تا 1000 میکرولیتر کشت ذخیره به ارلن های 250 میلی لیتری حاوی محیط کشت MRS اضافه شده

1. Microorganism
2. Stock Culture
3. Pre-culture

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]

و به مدت 16 ساعت در دمای 37 ºC و دور همزن 165 دور در دقیقه گرماگذاری[1] شدند.

آب پنیر: در این پژوهش، از آب پنیر به عنوان محیط پایهٔ تخمیر استفاده شد. آب پنیر مورد استفاده در این مطالعه، از کارخانه پنیرسازی مطهری تهیه شد. این آب پنیر از فرایند تولید پنیر پیتزا بدست آمده و دارای pH بین 3/5 تا 4 می باشد. آب پنیر حاوی مقادیر زیادی پروتئین می باشد که هنگام سترون سازی، بر روی الکترود pH سنج فرمنتور رسوب می کند. بنابراین لازم است تا قبل از تخمیر، آب پنیر پروتئین گیری شود. قسمت اعظم این پروتئین ها را لاکتالبومین، با pH ایزوالکتریک 4/6 تشکیل می دهد. بنابراین، به منظور پروتئین گیری، ابتدا با افزودن سود 5 مولار، pH آب پنیر در حدود 4/6 تنظیم شد. سپس، به مدت چند دقیقه در حرارت 110 ºC (درون اتوکلاو) قرار گرفته و لخته های پروتئینی تشکیل شده در اثر حرارت، با عبور آب پنیر از یک صافی پارچه ای، جدا شد. بدلیل رسوب پروتئین های باقی مانده در آب پنیر، در pH های بالاتر، با افزودن سود 5 مولار، pH مایع زیر صافی در 6/5 تنظیم شد. با چند دقیقه حرارت دادن مایع به دست آمده، در دمای 100 ºC، پروتئین های باقی مانده نیز رسوب کردند. مجدداً، سوسپانسیون بدست آمده، از صافی پارچه ای رد شد. مایع زیر صافی، با استفاده از اولترافیلتر دارای صافی 0/2 میکرون جدا شده و به منظور استفاده در تخمیر، در دمای 4 ºC نگه داری شد.

تخمیر: آب پنیر پروتئین گیری شده از نظر مواد غذایی ضعیف بوده و برای رشد لاکتو*باسیلوس کازئی* مناسب نمی باشد. بنابراین، پس از افزودن 0/05 گرم بر لیتر $MnSO_4.H_2O$، 1 میلی لیتر بر لیتر توئین 80[2] و غلظت مناسبی از منابع ازت، مورد استفاده قرار گرفت. فرایند تخمیر در ارلن های 250 میلی لیتری با حجم کاری 100 میلی لیتر انجام شد. پس از تهیهٔ محیط کشت و سترون سازی آن به مدت 15 دقیقه در دمای 121 ºC، pH محیط در 6/5 تنظیم شد. ارلن ها پس از تلقیح به میزان 2% (V/V)، تحت شرایط تعیین شده در طراحی آزمایش ها، به مدت 24 ساعت گرماگذاری شدند.

روش های اندازه گیری: برای اندازه گیری اسید لاکتیک تولید شده، از روش تیتراسیون [20] و به منظور تعیین میزان L(+)- اسید لاکتیک موجود، از کیت آنزیمی استفاده شد. دانسیتهٔ سلولی، با اندازه گیری میزان جذب نوری در طول موج 620 نانومتر و غلظت لاکتوز در محیط کشت نیز با استفاده از روش فنل- سولفوریک اسید [21] تعیین شدند.

طراحی آزمایش ها: به منظور بهینه سازی محیط کشت آب پنیر برای تولید اسید لاکتیک، 5 متغیر مستقل غلظت عصارهٔ مخمر، پپتون، سولفات آمونیوم، دما و دور همزن انتخاب شدند. هرکدام از منابع ازت، در 4 سطح و دما و دور همزن در 3 سطح (جدول 1) با استفاده از آرایهٔ M_{16} تاگوچی [19] (جدول 2) و نرم افزار Qualitek-4 بررسی شدند.

3- نتایج و بحث

لاکتو*باسیلوس* ها نیازمندی های غذایی پیچیده ای دارند، زیرا از آن دسته ریزسازواره هایی هستند که قابلیت تولید زیستی محدودی داشته و نمی توانند فاکتورهای رشد مورد نیازشان را بسازند. آنها نمی توانند فقط بر روی منبع کربن و نمک های معدنی نیتروژن رشد کنند. بنابراین به مجموعه ای از اسیدهای آمینه و ویتامین های متفاوت نیاز دارند. این فاکتورهای رشد، معمولاً با منابع نیتروژنی شبیه عصارهٔ مخمر، پپتون و سولفات آمونیوم فراهم می شوند. خصوصاً عصارهٔ مخمر، بدلیل دارا بودن بازهای پورین و پیریمیدین و ویتامین های گروه B بیشترین اثر را دارد [2، 4 و 22].

1. Incubation
2. Tween-80

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]

جدول 1 متغیرهای مؤثر بر تولید اسید لاکتیک و رشد *لاکتوباسیلوس کازئی* و سطوح انتخاب شده

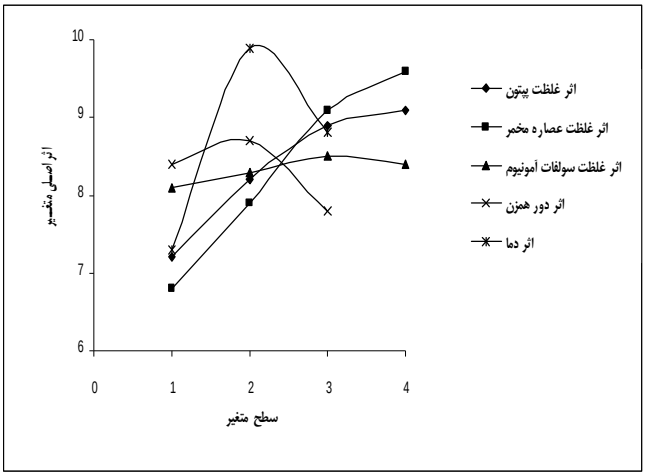
متغیر	سطح 1	سطح 2	سطح 3	سطح 4
پپتون (g/L)	0	2	5	8
عصارهٔ مخمر (g/L)	0	2	5	8
سولفات آمونیوم (g/L)	5	8	12	15
دور همزن (rpm)	100	165	230	-
دما (ºC)	30	37	45	-

جدول 2 آرایه M_{16} تاگوچی برای بررسی 3 متغیر 4 سطحی و 2 متغیر 3 سطحی و پاسخ های بدست آمده برای مقادیر OD_{620} اندازه گیری شده و غلظت نهایی اسید لاکتیک تولید شده (به صورت میانگین 3 تکرار)

شماره آزمایش	متغیر						پاسخ	
	غلظت پپتون (g/L)	غلظت عصارهٔ مخمر (g/L)	غلظت سولفات آمونیوم (g/L)	دور همزن (rpm)	دما (°C)	جذب نوری در 620 nm	اسید لاکتیک تولیدشده (g/L)
1	0	0	5	100	30	2/73	4/3
2	0	2	8	165	37	4/08	8/7
3	0	5	12	230	45	3/27	7/9
4	0	8	15	100	30	4/76	7/7
5	2	0	8	230	30	3/77	5/1
6	2	2	5	100	45	3/81	8/1
7	2	5	15	100	37	6/19	10/6
8	2	8	12	165	30	6/26	9/0
9	5	0	12	100	37	4/93	9/3
10	5	2	15	230	30	4/78	6/9
11	5	5	5	165	30	6/23	8/8
12	5	8	8	100	45	5/14	10/5
13	8	0	15	165	45	3/82	8/5
14	8	2	12	100	30	4/75	7/9
15	8	5	8	100	30	5/52	8/9
16	8	8	5	230	37	7/43	11/2

جدول 2 نتایج بدست آمده از 16 آزمایش طراحی شده به روش تاگوچی (به صورت میانگین 3 تکرار انجام شده) را نشان می دهد. با استفاده از داده های این جدول، تأثیر هر متغیر در سطوح مختلف، بر میزان تولید اسید لاکتیک در شکل 1 ارائه شده است.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]



شکل 1 اثرات اصلی متغیرها بر تولید اسید لاکتیک

با توجه به شکل 1، می توان به نتایج زیر دست یافت:

با افزودن پپتون به محیط کشت، تولید اسید لاکتیک افزایش قابل توجهی می یابد. این تفاوت بین سطوح اول تا سوم قابل ملاحظه است، اما در سطوح بالاتر تفاوت زیادی مشاهده نمی شود. با افزایش غلظت عصارهٔ مخمر در محیط کشت (خصوصاً در سه سطح اول)، میزان اسید لاکتیک تولید شده به طور قابل ملاحظه ای افزایش می یابد. بررسی ها نشان داده اند که عصارهٔ مخمر یک منبع گران برای نیتروژن است و عموماً در مقیاس آزمایشگاهی تخمیر اسید لاکتیک استفاده می شود، زیرا هیچ منبع دیگری نمی تواند در این مورد با آن رقابت کند. بنابراین، باید تلاش شود تا ضمن حفظ تولید بالا، افزودن عصارهٔ مخمر به محیط کشت به حداقل برسد. حتی این امکان وجود دارد که با استفاده از برخی منابع نیتروژنی ارزان تر به صورت مخلوط با عصارهٔ مخمر، تولید اسید لاکتیک را بالا برد [18 و 22]. با افزایش غلظت سولفات آمونیوم، تولید اسید لاکتیک افزایش پیدا می کند و در غلظت 12 گرم بر لیتر به حداکثر می رسد. اما تفاوت میان 4 سطح مورد بررسی زیاد نیست. اثر دور همزن در تولید اسید لاکتیک، نشان دهندهٔ وجود یک بیشینه در نقاط میانی است.

دما به طور قابل توجهی بر فعالیت زیستی پروتئین ها، خصوصاً آنزیم ها مؤثر است. بنابراین انتظار می رود که دما، تولید یک متابولیت خاص را تسریع یا مهار کند. با افزایش دما، تولید اسید لاکتیک زیاد شده و در دماهای متوسط (36 -39 ºC) به حداکثر مقدار خود می رسد. اما با افزایش بیشتر دما، تولید اسید لاکتیک کاهش می یابد. هوجانن[1] و همکاران [2] نیز با استفاده از روش آماری پاسخ سطحی به دمای بهینهٔ حدود 35 ºC دست یافتند. همچنین، کی[2] و یائو[3] [18] دمای بهینهٔ 37 ºC را گزارش کردند.

در جدول 3 آنالیز نتایج و سهم هر کدام از متغیرها در پاسخ نهایی ارائه شده است. چنانکه مشاهده می شود، متغیرهای مؤثر به ترتیب اهمیت عبارتند از: دما، عصارهٔ مخمر، پپتون، دور همزن و سولفات آمونیوم. تأثیر خطای آزمایش یا عوامل دیگر بر پاسخ تقریباً پایین است. شرایط بهینه برای تولید اسید لاکتیک از آب پنیر در جدول 4 گزارش شده است. بر اساس تحلیل آماری، غلظت اسید لاکتیک پیش بینی شده در شرایط بهینه، 12/6 گرم بر لیتر است. با انجام آزمایش در این شرایط، با 3 تکرار، غلظت اسید لاکتیک تولید شده، 12/2 گرم بر لیتر بود که تطابق خوبی با مقدار پیش بینی شده دارد.

جدول 3 آنالیز واریانس و تحلیل نتایج برای بهینه کردن شرایط تولید اسید لاکتیک از آب پنیر پروتئین گیری شده توسط باکتری *لاکتوباسیلوس کازئی*

متغیر	درجه آزادی	درصد تأثیر در جواب
پپتون	3	18/2
عصارهٔ مخمر	3	37/6
سولفات آمونیوم	3	0/7
دور همزن	2	3/8
دما	2	37/7
عوامل دیگر یا خطاها	34	2/0
جمع کل	47	100

1. Hujanen
2. Qi
3. Yao

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]

جدول 4 شرایط بهینه تولید اسید لاکتیک از آب پنیر پروتئین گیری شده توسط *لاکتوباسیلوس کازئی*

متغیر	سطح بهینه	مقدار بهینه
پپتون	4	8 گرم بر لیتر
عصاره مخمر	4	8 گرم بر لیتر
سولفات آمونیوم	3	12 گرم بر لیتر
دور همزن	2	165 rpm
دما	2	37 ºC

4- نتیجه گیری

به طور خلاصه در این پژوهش، به منظور تعیین شرایط بهینهٔ تولید اسید لاکتیک، از روش طراحی آماری تاگوچی برای بررسی سه نوع منبع ازت مختلف، دما و دور همزن استفاده شده و تأثیر هرکدام از متغیرها بر تولید اسید لاکتیک ارزیابی شده است. نتایج نشان دادند که با افزودن پپتون و خصوصاً عصارهٔ مخمر به محیط کشت، تولید اسید لاکتیک افزایش قابل توجهی می یابد. در دماهای متوسط (ºC 39- 36) تولید اسید لاکتیک به حداکثر مقدار خود می رسد و اثرات دور همزن نیز نشان دهندهٔ وجود یک بیشینه در نقاط میانی است. بر اساس تحلیل آماری، غلظت اسید لاکتیک پیش بینی شده در شرایط بهینه، 12/6 گرم بر لیتر است. با انجام آزمایش در این شرایط، با 3 تکرار، غلظت اسید لاکتیک تولید شده، 12/2 گرم بر لیتر بود که تطابق خوبی با مقدار پیش بینی شده دارد.

5- سپاسگزاری

در اینجا لازم می دانیم تا از زحمات و همکاری های ریاست، معاونین، اعضای هیئت علمی و کارمندان محترم مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی که در راستای انجام این تحقیق ما را یاری دادند، تشکر و قدر دانی نماییم. همچنین لازم است تا از همکاری های فراوان دکتر وند یوسفی ریاست محترم پیشین بخش میکروب شناسی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی تقدیر و تشکر به عمل آید.

6- منابع

[1] Altiok D., Tokatli F., Harsa S.; 2006, Kinetic modeling of lactic acid production from whey by *Lactobacillus casei* (NRRL B-441). Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 81: 1190-1197.

[2] Hujanen M., Linko S., Linko Y.Y., Leisola M.; 2001, Optimisation of media and cultivation conditions for L(+) (S)-lactic acid production by *Lactobacillus casei* NRRL B-441. Applied Microbiology & Biotechnology, 56: 126-130.

[3] Ding S., Tan T.; 2006, L-lactic acid production by *Lactobacillus casei* fermentation using different fed-batch feeding strategies. Process Biochemistry, 41: 1451-1454.

[4] Narayanan N., Roychoudhury P.K., Srivastava A.; 2004, L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. Electronic Journal of Biotechnology, 7: 167-179.

[5] Ataei S.A., Vasheghani-Farahani E.; 2008, In situ separation of lactic acid from fermentation broth using ion exchange resins. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, 35: 1229-1233.

[6] Amrane A., Prigent Y.; 1994, Lactic acid production from lactose in batch culture: Analysis of data with help of mathematical model: Relevance for nitrogen source and preculture assessment. Applied Microbiology & Biotechnology, 40: 644-649.

[7] Amrane A., Prigent Y.; 1994, Mathematical model for lactic acid production from lactose in batch culture: Model development and simulation. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 60: 241-246.

[8] Vaccari G., Gonzalez-Varay R.A., Campi A.L., Dosi E., Brigidi P., Matteuzzi D.; 1993, Fermentative production of L-lactic acid by *Lactobacillus casei* DSM 20011 and product recovery using ion exchange resins. Applied Microbiology & Biotechnology, 40: 23-27.

[9] Mirdamadi S., Rajabi A., Aziz Mohseni F., Momen B.; 1386 h.s. (2007-2008), Lactic acid production by different *Lactobacillus* species. Iranian Journal of Food Science & Technology, 2:57-64.

[10] Hujanen M., Linko Y.Y.; 1996, Effect of temperature and various nitrogen sources on

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]

L(+)-lactic acid production by *Lactobacillus casei*. Applied Microbiology & Biotechnology, 45: 307-313.

[11] Ye K., Jin S., Shimizu K.; 1996, Cell recycle and broth reuse fermentation with cross-flow filtration and ion-exchange resin. Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 66: 223-226.

[12] Kwon S., Lee P.C., Lee E.G., Chang Y.K., Chang N.; 2000, Production of lactic acid by *Lactobacillus rhamnosus* with vitamin-supplemented soybean hydrolysate. Enzyme and Micribial Technology, 26: 209-215.

[13] Nabi Bid Hendi G., Bani Ardalan P.; 1383 h.s. (2004-2005), Batch and continuous production of lactic acid from whey by immobilized *Lactobacillus*. Environmentlogy, 30(34): 47-53.

[14] Silva E.M., Yang S.T.; 1995, Kinetics and stability of a fibrous-bed bioreactor for continuous production of lactic acid from unsupplemented acid whey. Journal of Biotechnology, 41: 59-70.

[15] Yoo I. K., Chang H.N., Lee E.G., Chang Y.K., Moon S.H.; 1997, Effect of B vitamin supplementation on lactic acid production by *Lactobacillus casei*. Journal of Fermentation & Bioengineering, 84:172-175.

[16] Gonzalez-Varay R.A., Pinelli D., Rossi M., Fajner D., Magelli F., Matteuzzi D.; 1996,
Production of L(+) and D(-) lactic acid isomers by *Lactobacillus casei subsp. casei* DSM 20011 and *Lactobacillus coryniformis subsp. torquens* DSM 20004 in continuous fermentation. Journal of Fermentation & Bioengineering, 81: 548-552.

[17] Pinelli D., Gonzalez-Varay R.A., Matteuzzi D., Magelli F.; 1997, Assessment of kinetic models for the production of L- and D- lactic acid isomers by *Lactobacillus casei* DSM 20011 and *Lactobacillus coryniformis* DSM 20004 in continuous fermentation. Journal of Fermentation & Bioengineering, 83: 209-212.

[18] Qi B., Yao R.; 2007, L- Lactic acid production from *Lactobacillus casei* by solid state fermentation using rice straw. BioResources, 2: 419-429.

[19] Roy R.K.; 1990, A Prime on the Taguchi Method. Van Nostrand Reinhold, London.

[20] Shimizu K., Furuya K., Taniguchi M.; 1994, Optimal operation derived by Green's theorem for the cell-recycle filter fermentation focusing on the efficient use of the medium. Biotechnology Progress, 10: 258.

[21] Montgomery R.; 1961, Further studies of phenol-sulfuric acid reagent for carbohydrates. Biochimica et Biophysica Acta, 48: 591.

[22] Yu L., Lei T., Ren X., Pei X., Feng Y.; 2008, Response surface optimization of L-(+)-lactic acid production using corn steep liquor as an alternative nitrogen source by *Lactobacillus rhamnosus* CGMCC 1466. Biochemical Engineering Journal, 39: 496-502.

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]

Optimization of Lactic Acid Production Conditions in Batch Fermentation of Whey by *Lactobacillus casei*

Abdolalizadeh, M. S.[1], Vasheghani-Farahani, E.[2 *], Khodabandeh, M.[3] Hashemi-Najafabadi, S.[4]

1- M.Sc. Graduate, Department of Chemical Engineering, Biotechnology Group, Tarbiat Modares University
2- Professor, Biotechnology Group, Faculty of Engineering, Tarbiat Modares University
3- Assistant Professor, Industrial & Environmental Biotechnology Department, National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology
4- Assistant Professor, Biotechnology Group, Faculty of Engineering, Tarbiat Modares University
(Received:87/7/7 Accepted:88/4/28)

Recently, many studies have been conducted to produce lactic acid. At present study, lactic acid production conditions from whey, in batch fermentation, by *Lactobacillus casei* were studied to optimize culture medium, using Taguchi method. Four different concentrations for nitrogen sources; yeast extract, peptone and ammonium sulfate; and 3 levels for temperature and shaker rate were selected. At predicted optimum conditions by Taguchi analysis, in batch fermentation and without pH control, after 24 hrs incubation, 12.5 g/lit lactic acid was obtained.

Key words: (+) L-Lactic acid, Whey, Lactobacillus casei, Experimental design, Taguchi method

[*] Corresponding Author E-mail address: evf@modares.ac.ir

[Downloaded from fsct.modares.ac.ir on 2025-02-26]