

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



عضویت در خبرنامه



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



PROPOSAL

پروپوزال

کارگاه آموزشی پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

کارگاه آنلاین پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی



کارگاه آموزشی روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی

کارگاه آنلاین روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی



ISI Scopus

کارگاه آموزشی آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترکیه های جستجو

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترکیه های جستجو

تخلیص اسید لاکتیک از مایع تخمیری به دو روش کلاسیک و کروماتوگرافی تعویض یونی

دکتر سعید میردامادی ** ، لیلیا بیگ محمدی*، افسانه رجبی، دکتر فرزانه عزیز محسنی ،
سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده بیوتکنولوژی Mirdamadi@irost.ir
انستیتو پاستور ایران پایلوت بیوتکنولوژی صندوق پستی ۱۳۱۶۴
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه تخصصی زیست‌شناسی

چکیده

اسید لاکتیک، $(\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH})$ مایعی تقریباً بی‌رنگ با وزن مولکولی 90/08 و $\text{pK}_a=3.86$ در 25°C است. در بیوتکنولوژی تولید اسید لاکتیک مهمترین هدف کاهش هزینه‌های تولید همراه با محصولی با خلوص بالا و بازده بالا می‌باشد با تولید محصولی با خلوص بالاتر هزینه‌های پایین دست (تخلیص) نیز کاهش می‌یابد. هر چند که هزینه فرآیندهای تخلیص و جداسازی بخش وسیعی از هزینه کل تولید را در بر می‌گیرد. با توجه به موارد یاد شده هدف این تحقیق تولید اسید لاکتیک توسط سویه *Lactobacillus Casei Subsp. Casei* PTTC 1608 (سویه اصلی تولیدکننده L لاکتیک اسید) از سوبستراهای ارزان قیمتی همچون ملاس بعنوان منبع کربن و پودر خیس‌انده ذرت بعنوان منبع ازت می‌باشد و در ادامه تخلیص مایع تخمیری بدست آمده به دو روش کلاسیک و کروماتوگرافی تعویض یونی بررسی شد. با توجه به اینکه در طول تخمیر PH توسط هیدروکسید کلسیم تنظیم شد، در نهایت PH مایع تخمیری را با استفاده از همین قلیا تا حدود ۱۰-۱۱ بالا بردیم و سپس فرآیندهای پائین دست روی همین مایع تخمیری صورت گرفت. در روش کلاسیک مایع تخمیری با اسید سولفوریک، اسیدی شد و گچ تولید شده توسط فیلتراسیون جدا شد و سپس برای رنگ‌بری و تخلیص بهتر چند دوره زغال فعال زده شد. سپس اسید لاکتیک بدست آمده تغلیظ و میزان اسید لاکتیک با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که یکی از معایب روش کلاسیک از دست رفتن مقدار زیادی از اسید در طی پروسه‌های پی‌درپی تخلیص است و همچنین تولید گچ که از لحاظ زیست محیطی ایجاد مشکل می‌کند. در تحقیق حاضر از یک لیتر مایع تخمیری که دارای ۱۲۰ گرم در لیتر اسید لاکتیک بود، مقدار ۴۳/۵۱ gr گچ (ژیپس) جدا شد و میزان اسید بدست آمده 440 ml بود. در روش کروماتوگرافی تعویض یونی از رزین Ambertit IRA 400 استفاده شد که کروماتوگرافی در ستون در دو PH 5 و 2 بررسی شد. (PH بالا و پائین pK_a اسید لاکتیک)
در PH=5 از 50% (V/V) متانول بعنوان حلال شستشو و 2/5M H_2SO_4 بعنوان Eluant استفاده شد.
بازده کلی 71/50% بوده در صورتی که در شرایط PH=2، آب بعنوان Eluant استفاده شد و بازده کل 80/80% بود. نتایج نشان داد که شرایط PH=2 هم از نظر اینکه از آب به عنوان Eluant استفاده شد و همچنین آب مایع ارزان و در دسترس است و همچنین بازده بالا شرایط بهتری می‌باشد. این روش، روش خوبی است چرا که رزین حتی در حضور نمک‌های معدنی و ویژگی بالایی در جذب سطحی اسید لاکتیک به خود دارد.
کلمات کلیدی: اسید لاکتیک، جذب سطحی، رسوب دهی، ذغال فعال، *Lactobacillus Casei*

Recovery of L(+)-Lactic Acid by Precipitation and Anion Exchange Chromatography

Mirdamadi S. **, Beikmohammadi L. *, Rajabi A., Aziz Mohseni F.

Iranian Research Organization for Science and Technology, Biotechnology Dept., Tehran, Iran Mirdamadi@irost.ir
Pilot Biotechnology Dept., Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran, P.O. Bax 13164
Dept of Biology, Science & Research Center, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Lactic acid is a weak acid with a Pka of 3.86 at 25°C . it has two different stereoisomers. In the pharmaceutical and food industries L(+) form has special importance. New applications, such as biodegradable plastics have the potential to greatly expand the market for lactic acid. The main object of the industrial process for the production of the lactic acid is to obtain high yield of the pure isomer with feed stocks low in nitrogenous compounds under conditions of high temperature and negligible amounts of residual substrate. These requirements reduce down stream processing to a minimum. Separation process takes a large part of the total cost in lactic acid production. For these reason, the object of present work was to produce lactat salt in a low price by *Lactobacillus casei* spp. casei

PTCC 1608 and purified it in two methods. During fermentation, PH was controlled by addition of calcium hydroxide. The resulting calcium lactat solution at Ph=10-11 was then purified by these steps: evaporation, acidification with sulfuric acid, filtration, washing of filtrate cake with water, activated carbon bleaching, respectively. The disadvantages of this method were high product loss and formation of a large quantity of gypse. Our result shown formation of 43.51gr dry gypse from 1 litre of broth fermentation and amount of L-lactic acid broth(120gr/l) at the end of process was 440ml. Another method was anion exchange chromatography. Amberlit IRA-400 was applied for the recovery of lactic acid. We tested two PH, lower and above Pka of lactic acid. ($2 \leq \text{PH} \leq 5$).

At PH=5 using 50% (v/v) methanol as washing solvent and 2.5 M H₂SO₄ as eluent, the total yield was 77.50%. However, the total yield was 80.08% when the column separation was performed at PH=2 and water was used as eluant. In total the polymer adsorbent showed good selectivity and high adsorption capacity for lactic acid even in the presence of inorganic salt.

keywords: Lactic acid, Precipitation, Anion Exchange Chromatography, activated carbon, Lactobacillus casei, adsorption

مقدمه

اسید لاکتیک ($\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$) مایعی تقریباً بی‌رنگ با وزن مولکولی 90/08 و $\text{pK}_a=3.86$ در 25°C است. مصرف اسید لاکتیک در طی چند دهه اخیر رشد بسیار زیادی داشته است. این اسید برای ساخت پلاستیک های تجزیه پذیرمرد استفاده قرار میگیرد. در بیوتکنولوژی تولید اسید لاکتیک مهمترین هدف کاهش هزینه های تولید همراه با محصولی با خلوص بالا و بازده بالا می باشد با تولید محصولی با خلوص بالاتر هزینه های پایین دست (تخلیص) نیز کاهش می یابد. هر چند که هزینه فرآیندهای تخلیص و جداسازی بخش وسیعی از هزینه کل تولید را در بر می گیرد. روش صنعتی رایج برای بازیافت اسید لاکتیک از مایع تخمیری رسوب دهی بوسیله نمک کلسیم است. از معایب این روش هزینه بالای آن و آلوده کردن محیط زیست است زیرا مقادیر زیادی گچ تولید می شود {1}. روشهای بسیار دیگری نیز همچون الکترودیالیز، استخراج مایع-مایع، جداسازی جذبی (فرایند سوربکس)، استفاده از غشاهای برای جداسازی مورد بررسی قرار گرفته است. جداسازی با استفاده از رزین های تبادل یونی روش کاربردی است که به علت راحتی و همچنین اقتصادی بودن آن در صنعت مورد استفاده قرار می گیرد، بویژه، که میتوان از آن بصورت توأم با فرایند های تخمیر استفاده کرد. (Kawabata et al (1982) اسید های کربوکسیلیک را با استفاده از روش جذب روی پلیمرهای با ساختار اسکلت پیریدین جداسازی کردند. پلیمرها ظرفیت جذب بالا و همچنین ویژگی جذبی بالایی نسبت به اسید های کربوکسیلیک حتی در حضور نمک های معدنی نشان دادند.

مواد و روشها

مواد: از رزین Ambertit IRA 400 استفاده شد. رزین را با 1M NaOH، آب، 1M H₂SO₄ و آب تیمار میکنیم و سپس رزین را با اسید سولفوریک 1 مولار فعال می کنیم. در روش رسوب دهی با نمک کلسیم از اسید سولفوریک و ذغال فعال استفاده شد.

روشهای آنالیزی:

مقدار اسید لاکتیک با استفاده از روش رنگ سنجی اندازه گیری شد و همچنین نتایج توسط HPLC تأیید گردید.

آماده سازی مایع تخمیری:

محیط تولید اسید لاکتیک دارای 6% گلوکز، 5% پودر خیسانده ذرت و 12% ملاس بود. سویه *Lactobacillus casei* subsp. *casei* PTTC 1608 (سویه تولید کننده L-اسید لاکتیک) به فرمانتور 20 لیتری به میزان 10% تلقیح شد. شرایط تخمیر با PH 6,1 در دمای 42 درجه سانتیگراد و دور 400 rpm به مدت 48 ساعت ادامه داشت. در انتها با استفاده از

هیدروکسید کلسیم PH مایع تخمیری نامحدوده ۱۰-۱۱ بالا برده شد. و از آن در دو پروسه جداسازی با رزین های تعویض یونی و همچنین رسوب دهی بصورت نمک کلسیم استفاده شد.

نتایج و بحث

تخلیص به روش رسوب دهی با نمک کلسیم: نتایج نشان داد که از یک لیتر مایع تخمیری مقدار ۴۳/۵۱ gr گچ (ژیبس) جدا شد و میزان اسید بدست آمده 440 ml با غلظت ۱۲۰ گرم در لیتر بود. و از لحاظ خلوص نتایج HPLC خلوص ۹۸,۶۵% را نشان داد.

تخلیص به روش تعویض یونی: در PH=5 بازده کلی 71/50% بوده در صورتی که در شرایط PH=2، بازده کل 80/80% بود. همچنین در نتایج HPLC درصد خلوص نمونه PH=5 ۹۶,۸۸% و نمونه PH=2 ۹۹,۵۴% گزارش شد. نتایج نشان داد که شرایط PH=2 هم از نظر اینکه از آب به عنوان Eluant استفاده شد و همچنین آب مایع ارزان و در دسترس است و همچنین بازده بالا شرایط بهتری می باشد. این روش، روش خوبی است چرا که رزین حتی در حضور نمک های معدنی و یژگی بالایی در جذب سطحی اسید لاکتیک به خود دارد.

REFERENCESE:

- 1-N. Kawabata, S. Yasuda, T. Yamazaki , (1982) Process for Recovering a Carboxylic acid ,US Patent 4,323,702.
- 2- M. Cockrem, J. Pride D.(1991) Recovery of Lactate Ester and Lactic acid from Fermentation Broth ,US Patent 718542
- 3-Srivastava,A.,Roychoudhury, P.;Vikramshahi; (1992) Extractive Lactic acid Fermentation Using Ion-Exchange Resin ; Biotechnol. Bioeng ;39 : 607-613
- 4-Q.Rjin , J.M. Zhang, Q. Xu , (1994)Lactic acid ,Fermentation Technology of Organic acid China Light Industry Publisher , Beijing pp. 389-398

SID



سرویس های ویژه



سرویس ترجمه تخصصی



کارگاه های آموزشی



بلاگ مرکز اطلاعات علمی



عضویت در خبرنامه



فیلم های آموزشی

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی



PROPOSAL
پروپوزال

پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی

دکتره تهرانی

کارگاه آنلاین
پروپوزال نویسی و پایان نامه نویسی



روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی

دکتره تهرانی

کارگاه آنلاین
روش تحقیق و مقاله نویسی علوم انسانی



ISI
Scopus

آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو

دکتره تهرانی

کارگاه آنلاین آشنایی با پایگاه های اطلاعات علمی بین المللی و ترند های جستجو