تخمر حامض اللاكتيك Lactic acid Fermentation

تكون بكتريا حامض اللاكتيك (Lactic acid bacteria) البكتيريا الرئيسيه المسؤوله عن هذا النوع من التخمر والذي يكون عل نوعين :

1. التخمر المتجانس Homofermentation : يتحول فيه سكر الكلوكوز الى حامض اللاكتيك فقط .

لاهوائيا

Glucose ⟶ 2Lactic acid

$C_6H_{12}O_6$ ⟶ $2CH_3CHOHCOOH$ (80-90)%

2. . التخمر المتباين Heterofermentation: تتكون كميه اقل من حامض اللاكتيك من تخمر سكر الكلوكوز وبنسبه (50%) فضلا عن غاز CO_2 والكحول الاثيلي وحامض الخليك .

Glucose ⟶ 2Lactic acid + Ethanol + Acetic acid +CO2

$C_6H_{12}O_6$ ⟶ $CH_3CHOHCOOH + CH_3CH_2OH + CH_3COOH + CO_2$

50%

صفات بكتريا حامض اللاكتيك :

تمتاز بكتريا حامض اللاكتيك بكونها بكتريا موجبه لصبغه غرام غير مكونه للسبورات عصويه او كرويه الشكل , لا هوائيه او متحملة لوجود كميات قليله من الهواء Microaeropphilic ، متحملة للحموضة والملوحة , وتحتاج هذه البكتريا الى متطلبات غذائية معقده لنموها , اذ تحتاج الى مدى واسع من المركبات العضويه واللاعضويه والفيتامينات والأحماض الامينيه .

تضم بكتريا حاض اللاكتيك مجموعتين رئيسيتين هما:

1. Cocci group وتشمل *Lactococcus* وتضم *Lactococcus lactis* و *Lactococcus cremoris* و *Streptococcus* وتضم *Streptococcus thermophilus* و *Leuconostoc spp* و *Pediococcus spp* و *Enterococcus spp*

2. Rod-shaped group وتشمل عائلة Lactobacillaceae ومنها *Lactobacillus casei* و *Lb. acidophilus* و *Lb. plantarum* و *Lb. delbrueckii subsp .bugaricus*

عموما جميع انواع بكتريا *Lactococcus* , *Streptococcus* , *Pediococcus*, *Enterococcus*.هي متجانسة التخمر Homofermentative وجميع انواع Leuconostoc هي متباينة التخمر Heterofermentative اما الانواع التابعه لجنس Lactobacillus فتضم ثلاثة مجاميع

A . مجبره متجانسة التخمر Obligatory Homofermentative

B. اختياريه متباينة Fcultatively Heterofermentative

C. مجبره متباينة التخمر Obligatory Heterofermentative

تقسيم بكتريا حامض اللاكتيك اعتمادا على الحاجه والغاية من استخدامها :

1- انتاج الحامض Acid production

Lactic Lactococcus , Lactococcus cremoris , Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus.

2 .انتاج النكهة والحامض Flavor & Acid production مثل بكتريا: *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus*

3.انتاج النكهة Flavor production مثل: *Lactococcus cremoris*
4. انتاج الاغذيه العلاجيه Therapeutic Foods: الانواع التابعه للأجناس *Lactobacillus , Lactococcus , Enterococcus , streptococcus ,*

انتاج حامض اللاكتيك Lactic acid production

عمليه التخمير والأوساط التخميريه *:*

تستخدم اوساط المولاس والذرة ونشاه البطاطا والقصب والبنجر السكري (السكر مستخلص منها) ومخلفات معامل الورق والشرش (whey) كما تستخدم المحاليل السكرية للمالتوز واللاكتوز والسكروز والدكستروز , وتفضل الاخيره على المواد الخام لان الاستخلاص للحامض يكون اسهل وانقى .
يحتوي الوسط المثالي للإنتاج على سكر بحدود (10_15%) و(10%) كربونات الكالسيوم وكميه قليله من مركبات نتروجينيه كفوسفات الامونيوم .
ينتج هذا الحامض في احواض تخمير مصنوعة من الخشب والصلب المقاوم للصدأ بسبب الطبيعة التاكليه للحامض . يضاف اللقاح للوسط بنسبه (5%) اما درجه حراره التخمر تثبت على (45- 50)م او(30) م حسب نوع البكتريا المستخدمه في الإنتاج يحافظ على pH التخمر بحدود (5.5 -6.5) باضافه كربونات الكالسيوم $CaCO_3$, يستمر التخمر بحدود ستة ايام والحامض المنتج بحدود (80_90) % حسب نوع السكر .

استخلاص حامض اللاكتيك :

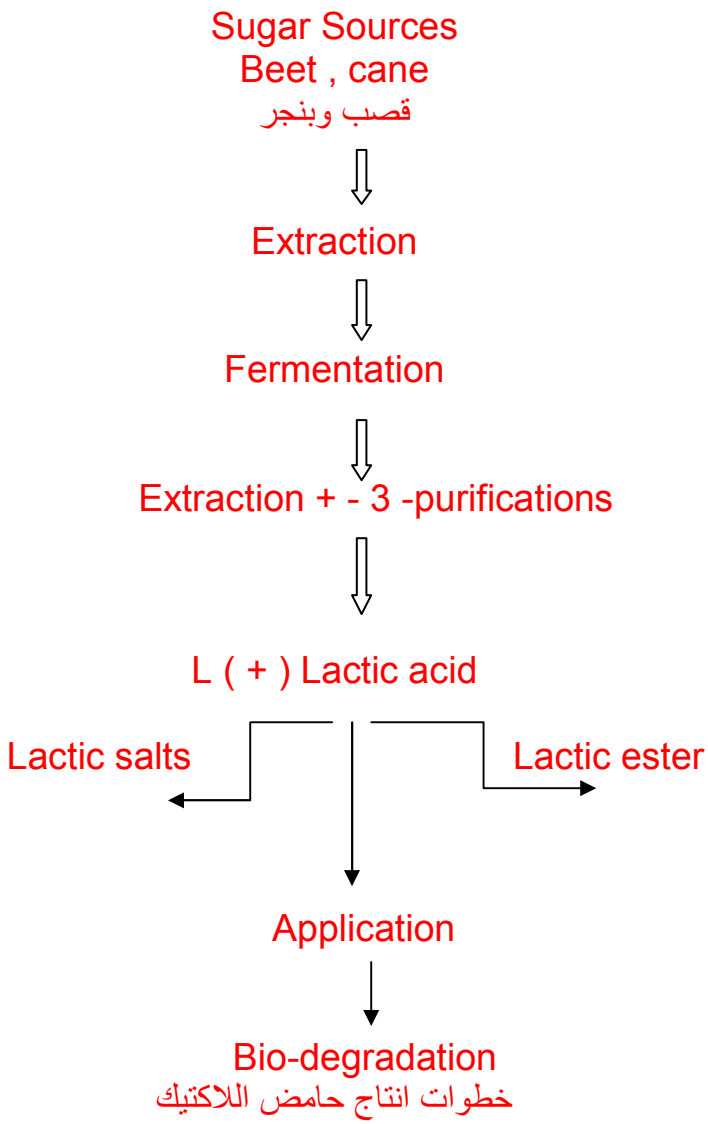
بعد انتهاء عمليه التخمر تضاف كميه اضافيه من كربونات الكالسيوم لتثبت ال pH على (10) عندها يسخن وسط التخمير ويرشح حيث يتحول كل حامض اللاكتيك الى لاكتات الكالسيوم وتقتل كل البكتريا ويزال البروتين وما تبقى من كربونات الكالسيوم ومواد اخرى.
ويستخلص الحامض من السائل بعده طرق :
1. تركيز السائل الى ان تتبلور لاكتات الكالسيوم ثم يضاف حامض الكبريتيك H_2SO_4 لأزاله الكالسيوم بشكل كبريتات الكالسيوم ثم يعاد بلوره حامض اللاكتيك .
2. يستخلص حامض اللاكتيك الحر بواسطة Isopropyl ether ثم يستخلص الكحول بالماء الحار
3.يستخلص الحامض بواسطة (Methyl ester) وتقطيره ثم تحليل الاستر بالماء الغلي , ثم يستخلص الحامض بالتبخير والمثانول بالتقطير.

انواع حامض اللاكتيك :

1. النوع الخام (crude) او يسمى (technical grade) : يكون ملون ويحضر للاستخدامات التجاريه وتركيزه (22- 80)% .
2. النوع الغذائي (Edible grade:) : لونه بني يباع بتراكيز (50,80) %
3.plastic grade :عديم اللون تركيزه (50,80) %
4. U.S.P. lactic acid :وهو انقى نوع , تركيزه(85) % يستخدم في مجالات الطبية والصيدلانية..

-استخدامات حامض اللاكتيك التجاريه :

يستخدم في الصناعات الجلدية (النوع الخام) وصناعات النسيجيه صناعه مواد التلميع والمواد البلاستيكيه , وفي الصناعات الغذائية مثل صناعه مشروبات الغازيه والمربيات وكماده خافضه في المخللات , كما تستخدم املاح في المعجبات وكمصدر للكالسيوم في العلاج الطبي ..



خطوات انتاج حامض اللاكتيك

انتاج اللبن الرائب Yogurt production :

اللبن الرائب (Yogurt) منتج متخمر ينتج من الحليب بالاعتماد على علاقات تعايشيه بين سلالات بوادئ (Starter) , والبادئ المستعمل هو *Lb. delbrueckii sub .bulgaricus St. thermophilus* وفي العلاقة التعايشية تقوم العصيات بتحليل بروتينات الحليب لان لها القابليه اكبر على هذه الفعالية وتحرير الحوامض الامينيه والببتيدات الصغيره وفي هذه الحاله بتحليل حوالي 1- 2% من بروتينات الحليب ويكون المستوى كافيا لنمو البكتريا. ويحفز نمو المكورات وتبدأ بإنتاج حامض الفورميك formic acid الذي يحفز بدوره نمو العصيات , وهذا التعاون يؤدي الى تقصير وقت التخمر ..

تكون العصيات في هذا البادئ مسئوله عن انتاج الحامض والنكهة للمنتج فيما تكون المكورات مسؤوله عن انتاج الحامض فقط , وقد يستخدم بادئ من نوع واحد فقط ويكون الناتج مختلفا عن استعمال البادئ الخليط ...

اهم المشاكل التي تواجه البادئ

1.الفاجات البكتيرية Bacteriophages : الفاجات البكتيرية وهي فيروسات تصيب البكتريا وتسبب اصابه مزارع البادئ بهذه الفاجات فشل عملي التخمر والإنتاج ولتلافي هذا المشكله يفضل استخدام بادئ مكون من اكثرمن سلاله Multistrain culture او ان يكون البادئ من سلالتين Double strain او اللجوء الى استخدام سلالات من بكتريا حامض اللاكتيك مهندسه وراثيا لمقاومه الفاجات الكبيره ...

2. وجود المثبطات Inhibitors وتشمل :

1.المواد المثبطه في الحليب الخام : يكون نمو بوادئ بكتريا حامض اللاكتيك في الحليب الخام ابطئ بكثير من نموها في الحليب المعامل بالحرارة ، ويعود السبب في ذلك وجود المواد المثبطه الطبيعيه في الحليب الخام مثل Lactoferrin , Lysozyme ,Lactoperoxidase

2. المضادات الحياتيه Antibiotics ويكون وجود لها في الحليب سببه علاج الحيوان بالمضادات الحياتيه.وتسبب تثبيط نمو بكتريا حامض اللاكتيك وإيقاف التخمر.

3.المعقمات الكيمياويه Chemical sterilizers : قد يتلوث الحليب بمواد التعقيم الكيمياويه التي تصل الى الحليب عن طريق الخطأ ومثالها مركبات الامونيوم التي تحتفظ بفعالياتها في الحليب مثبطه بذلك نمو بكتريا حامض اللاكتيك التي تكون حساسة للتراكيز الواطئه منها .

المواصفات الواجب توفرها في بوادئ الالبان

1. قابليته على انتاج كميه كبيره من الحامض
2. معدل نمو جيد
3.مقاومته للمضادات الحيوية
4.مقاومته للفاجات البكتيرية
5.قابليته على تحمل المعاملات الحرارية

اشكال بوادئ الالبان

1.مزارع خزينة سائله هي الاكثر استعمالا Liquid stock cultures
2. مزارع مجفده Freeze-dried
3.مزارع مركزه مجمده Frozen Concentrated cultures
4.مزارع مجففه بالرذاذ Spray -dried cultures

خطوات انتاج اللبن الرائب (yogurt)

1. تحضير الحليب :

تضمن هذه الخطوة ضبط نسبة الدهن ونسبة المواد الصلبه في الحليب ويتم ذلك من خلال فصل الدهن من الحليب بحيث تتراوح نسبة الدهن النهائية من صفر الى اكثر 4% , ويضاف الى الحليب الطبيعي مسحوق الحليب المجفف منزوع الدهن(skim milk) لتصل نسبة المواد الصلبه فيه ال 10% ويتم تركيز الحليب للحصول على هذه النسبة.

2. مجانسة الحليب Homogenization :

وتتم هذه الخطوة بدرجة حرارة (60-70)م والغاية منها مجانسة حبيبات الدهن في الحليب والحصول على نسجه ناعمة للمنتج .

3. معامل الحليب بالحرارة Heat treatment :

يتطلب انتاج اللبن الرائب معاملة الحليب بدرجة حرارة تتراوح من حرارة البسترة (72م \ 15 ثانية الى(133م \ 1ثانية) وعادة تستخدم درجة حرارة (85 م \ 30 دقيقه) عند الانتاج بالطريقة المتقطعة (Batch) او (90-95) لمدة (5-10) دقيقه بالطريقة المستمرة Continuous.

4. تبريد حليب الى 42 م ثم تلقيحه بالبادئ بنسبة 1.25%: 1.25%من كل من بكتريا *Lb. delbruecckii* sub sp. *Bulgaricus* , *St. thermophilus* يتم بالتخمير بدرجة حرارة 42 م ووقت التخمير 3.5-4.5 ساعة .

5. التبريد الى درجة حرارة (2-4) ثم التعبئة .

انتاج اللبن الرائب العلاجي Probiotics Yogurt :

يقصد بـ Probiotics Yogurt منتوج اللبن الرائب الحاوي على الاحياء العلاجية (Probiotics) والتي تأتي بكتريا حامض اللاكتيك في مقدمتها . ويستعمل هذا المنتوج وغيره من المنتجات المتخمرة بالأحياء العلاجية لإغراض طبية ووقائية .

تتضمن عملية انتاج Probiotics Yogurt اما بإضافة السلالات من البكتريا *Lactobacillus* العلاجية مثل *Lb. acidophilus* و احلالها محل البكتريا البادئ *Lb. bulgaricus* او ان يضاف خليط من بكتريا علاجية *Lactobacillus* , *Bifidobacterium* , *Enterococcus*, مع بادئ الالبان *St. thermophilus*, *L.bulgaricus* والغاية من ذلك الحفاظ على نكهة ونسجة اليوكرت . وتكون الخطوات الانتاج مشابهة لخطوات انتاج اليوكرت . ماعدا بعض التغيرات وهي : خفض درجة حرارة التخمير الى درجة الحرارة المثلى للبكتريا العلاجية 37 م ويكون وقت التخمير اطول وفي حالة اضافة بادئ الالبان تجنب زيادة الحامضية بحيث يؤدي الى خفض اعداد الخلايا البكتريا العلاجية للمنتوج اثناء الخزن

Probiotics: يمكن تعريفها بتلك الاحياء المجهرية المتواجدة في المزارع المفردة او المختلطة والتي تمتلك تأثيرات مفيدة على صحة الانسان والحيوان من خلال دورها في تحسين الفلورا الميكروبية الداخلية .....

التخمرات الهوائيه Aerobic fermentation

اساس هذه التخمرات هي دورة كربس Krebs او تسمى Citric acid cycle او تسمى (TCA) Tricarboxylic acid وقد اكتشفها العالم (Krebs) تقوم بها الاحياء المجهريه الهوائيه فقط وفيها :

-*Proteus vulgaris*
-*Pseudomonas fluorescens*
-*Mycobacterium tuberculosis*
-*Acetobacter spp*
-*Saccharomyces cerevisiae*
-*Azotobacter agile*

وذلك لأنها تمتلك انزيم اساسي هو Succinate dehydrogenase الذي يؤكسد Succinic acid الى Fumaric acid

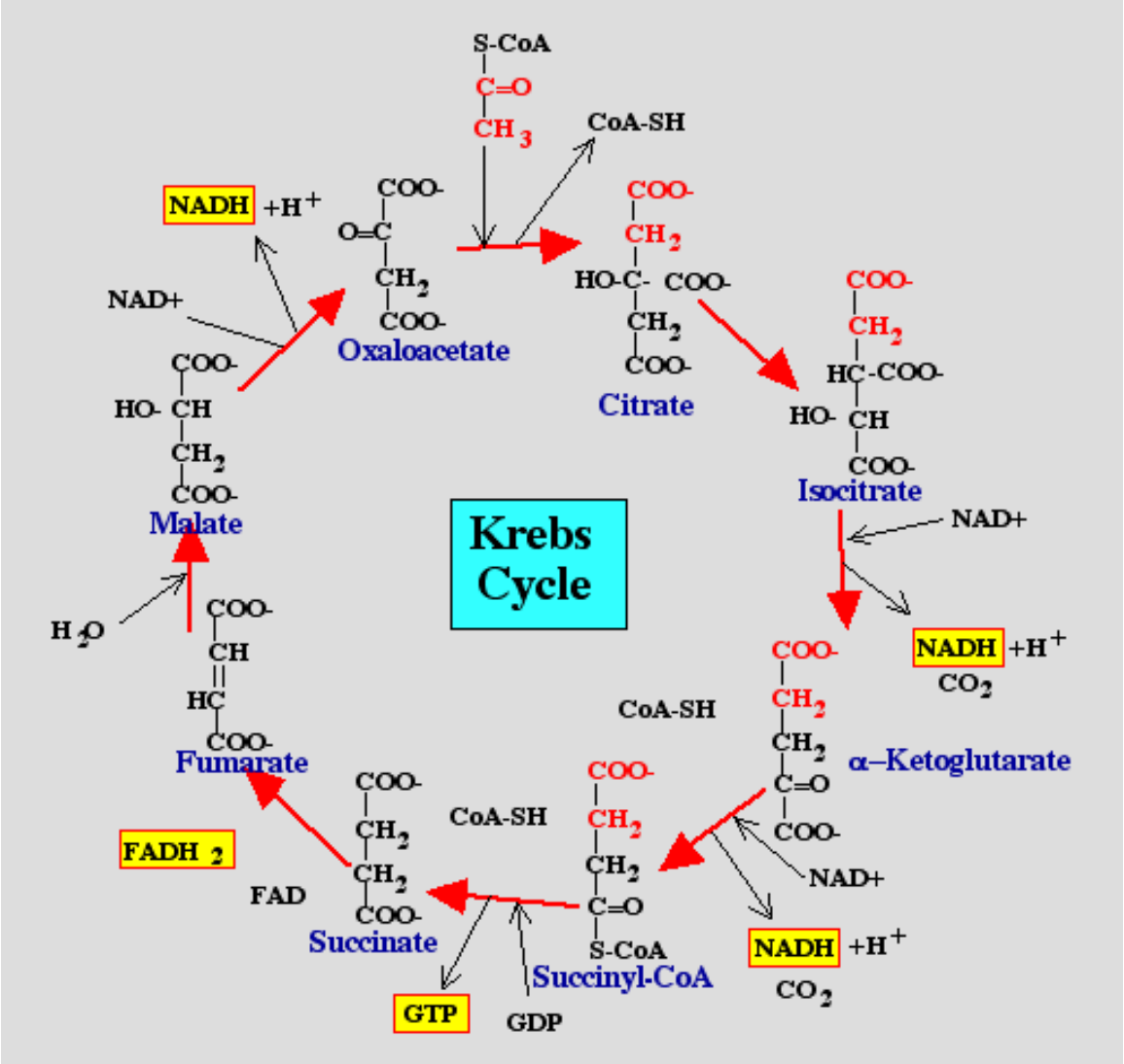
Succinate dehydrogenase
Succinic acid ⟶ fumaric acid

تفقد البكتريا اللاهوائيه واللاهوائيه الاختيارية هذا الانزيم وتمتلك بدلا عنه Fumarate reductase والذي لا يقوم بنفس دور انزيم Succinate dehydrogenase اي انه لايستطيع استغلال COA وهو لا يقوم بالا كسده الطرفيه ل (acetate)على العكس من Succinate dehydrogenase الذي يكون مسؤول عن الاكسده الطرفيه للاستيت (Acetate terminal oxidation) .

الانزيمات والعوامل المهمة المساعده في دورة كريبس

تبدأ الدورة من ال Acetate وبالتحديد Acetyl COA الذي يتحد مع مركب oxalo acetic acid لتكوين مركب سداسي الكربون هو حامض الستريك Citric acid الذي بدوره يتحول الى Isocitric وحسب مخطط الدورة ادناه :

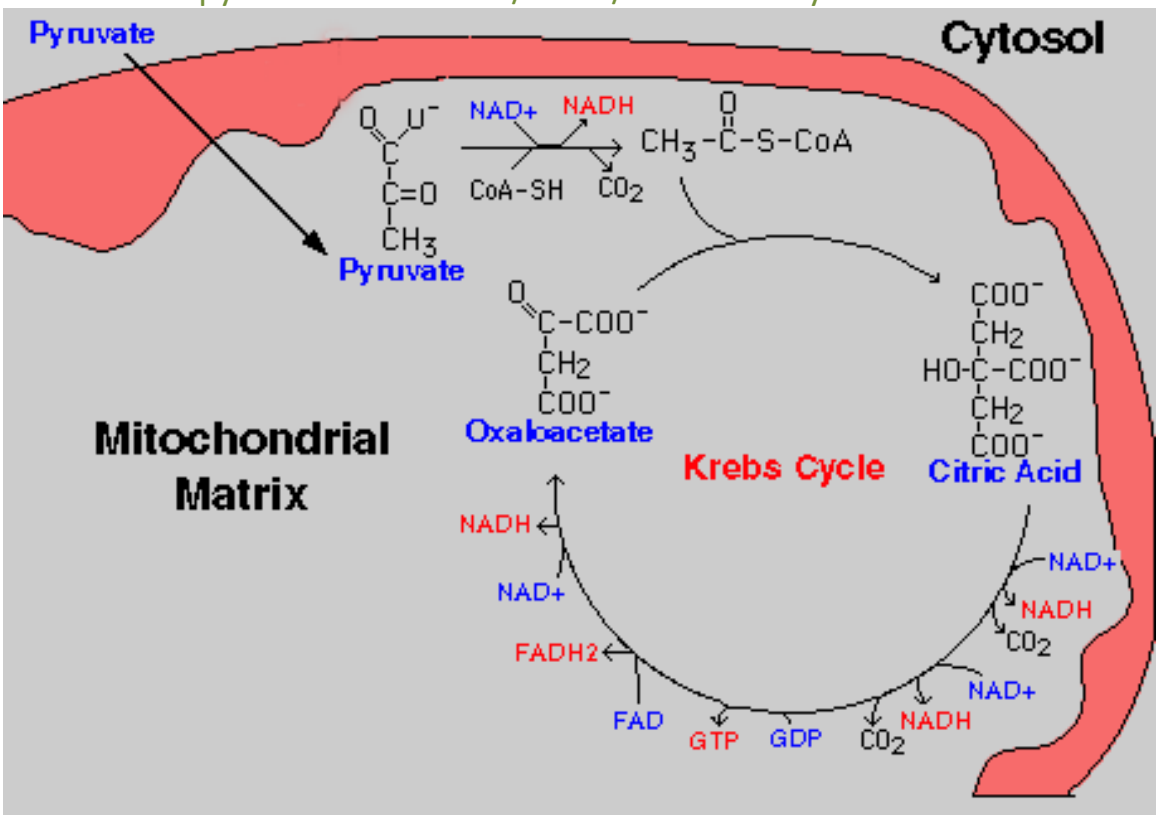
-FAD= Flavin adenine dinucleotide -
-FADH2 = Reduced flavin adenine dinucleotide
-GDP =Guanosine diphoshate
-GTP=Guanosine triphosphate
-NAD^+=Oxidized nicotinamide adenine dinucleotide
-NADH =Reduced nicotinamide adenine dinucleotide
-$NADP^+$=Oxidized nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
-NADPH =Reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
ATP= Adenosine triphosphate
ADP= Adenosine diphosphate
AMP= Adenosine monphosphate



الانزيمات المشتركة في دورة TCA

1. Citrate synthetase ; 2. Aconitase ;3. Isocitrate dehydrogenase ; 4.α –Ketoglutarate dehydrogenase ; 5.Succinyl –COA Synthetase ; 6. Succinate dehydrogenase ; 7. Fumarase ; 8 .Malate dehydrogenase

Oxidation of pyruvate via the TCA/Krebs/Citric Acid Cycle



Net Energy Yield from the Oxidation of Pyruvate via the TCA cycle

From Glycolysis:

+2NADH +2ATP

From TCA:

+2FADH +8NADH +2GTP

ETC:

3ATP/NADH
2ATP/FADH

+4ATP + 30ATP

+38ATP TOTAL