تأثير إضافة مستخلص تفل التفاح على إنتاج خميرة الخبز من المولاس باستخدام طريقة التخمير المغمور

ديانا فياض *[1] ونايمان نعمة [1]

(1). كلية الهندسة الزراعية، جامعة حمص، حمص، سورية.

(*للمراسلة: م.ديانا فياض، البريد الإلكتروني: dianafayad685@gmail.com، هاتف: 0937273153).

تاريخ الاستلام: 2024/09/29 تاريخ القبول: 2025/02/24

الملخص

هدف البحث الى عزل خميرة الخبز من عدة مصادر غذائية (النبيذ الحلو، دبس العنب، مربى التفاح، عصير البرتقال الحلو الصناعي، شراب التمر هندي، شراب الجلاب، التمر)، صنفت في سبع عزلات على أنها *Saccharomyces cerevisiae* وذلك من خلال خواصها المزرعية والمجهرية والبيوكيميائية، أظهرت الخميرة المعزولة من عصير البرتقال الحلو الصناعي (YOJ) أعلى قوة تخميرية من خلال اختبار نفاشية العجين، حيث تم إكثار هذه العزلة في وسطين. الوسط الأول (bm_1) وهو المولاس المتحصل عليه من معمل سكر حمص بعد إضافة تراكيز مختلفة من مستخلص تفل التفاح (40-50-60)% باستخدام طريقة التخمير المغمور، قدرت الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكروبية للكتلة الحيوية الناتجة، فوجد أنه عند إضافة مستخلص تفل التفاح بنسبة 60% لسائل التخمر المولاسي بلغت قيمة المادة الجافة 29%، والرماد 0.132%، وقوة التخمر 2800 سم^3، وكانت قيمة البروتين 52%. كما تم إكثار الخميرة (YOJ) باستخدام وسط ثاني (bm_2) وهو عبارة عن وسط تركيبي مغذي مدعم بالعديد من الأملاح المضافة لسائل التخمر المولاسي، فوجد أن قيمة البروتين 37% وقوة تخمرها كانت 2000 سم^3. وعند مقارنة نتائج الوسط الأول مع نتائج وسط معمل سكر حمص فقد تفوق تركيز 60% من مستخلص تفل التفاح من حيث قوة التخمر وقيمة البروتين على بقية التراكيز وعلى وسط المعمل. وعند مقارنة نتائج الوسط الثاني (التركيبي المغذي) مع نتائج وسط معمل سكر حمص ونتائج أفضل نسبة من مستخلص تفل التفاح (60%)، فظهرت فروق معنوية بالنسبة لقوة التخمر ولقيمة البروتين وتفوق تركيز 60% من مستخلص تفل التفاح على كل من الوسط التركيبي ووسط معمل السكر.

الكلمات المفتاحية: التخمير المغمور، تفل التفاح، قوة التخمر، المولاس، نفاشية العجين.

المقدمة:

تعتبر خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* كائنات حقيقية النواة وحيدة الخلية، لها أهمية كبيرة في تطبيقات التكنولوجيا الحيوية المختلفة، حيث لعبت دوراً هاماً منذ آلاف السنين في عمليات تخمر صناعة الخبز والمشروبات مثل النبيذ والبيرة (Parapouli *et al*.,2020)، يمكن إنتاج خميرة الخبز *S. cerevisiae* بدءاً من ركائز تحتوي على مصادر قابلة للاستقلاب من الكربون والنتروجين والأملاح المعدنية والفيتامينات الأساسية، لذلك يمكن استخدام مواد غذائية مثل الحبوب والتمور أو استخدام المنتجات الثانوية لبعض الصناعات مثل المولاس واستخدام المخلفات الزراعية وبقايا الأطعمة، والركيزة المستخدمة حالياً في العالم لإنتاج خميرة الخبز هي المولاس (Jay,1996). ويعتبر المولاس ناتج ثانوي عن صناعة السكر، وهو عبارة عن المتبقي بعد بلورة جزيئات السكر، يحتوي المولاس تقريباً على 50% سكروز، ويتم الحصول على المولاس من مصدرين هما الشوندر والقصب، ويعد أرخص مصدر للكربوهيدرات (Atiyeh and Duvnjak,2003; Bekatorou *et al*.,2006). يستخدم المولاس كمصدر للكربون والطاقة وبعض المغذيات لتنمية الخميرة، ولكنه لا يزودها بكافة المواد اللازمة لنمو الخميرة لذلك لا بد من إضافة بعض المغذيات مثل كبريتات الأمونيوم، يوريا، ببتون كمصدر للنتروجين، حمض الفسفوريك، فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين كمصدر للفوسفور وبعض العناصر الكبرى مثل الكالسيوم على شكل أملاح الكالسيوم والمغنزيوم على شكل أملاح المغنزيوم وبعض العناصر الصغرى مثل الحديد والزنك والنحاس والمنغنيز وبعض الفيتامينات مثل البيوتين والاينوسيتول وحمض البانثونيك والثيامين لإنتاج أعلى مردود من الكتلة الحيوية (El-Gewely,2007). وبينت الدراسات إمكانية الاستبدال الجزئي للمولاس بمستخلص تفل التفاح في العديد من العمليات الحيوية الصناعية وذلك عند تنمية خميرة الخبز على دفعات (Vukušić *et al*., 2021) حيث تشكل المكونات النشطة لتفل التفاح فائدة كبيرة نظراً لعدم سميتها وقابليتها للتحلل البيولوجي وتوافقها الحيوي (Gołębiewska *et al*., 2022). وقد كشفت اتجاهات البحث الحديثة أيضاً أن هناك زيادة في استخدام مخلفات التفاح لإنتاج الألياف الغذائية والبروتين والبوليمرات الحيوية وغيرها، حيث تستخدم هذه المخلفات كركيزة في عدد من العمليات الميكروبية لإنتاج البروتين أحادي الخلية والأحماض العضوية والأنزيمات والإيثانول والمشروبات الكحولية والأصبغة نظراً لارتفاع نسبة الكربوهيدرات فيها إضافة لاحتوائها على البروتينات والفيتامينات والمعادن ومضادات الأكسدة الطبيعية (Bhushan *et al*., 2008).

تم من خلال دراسة الصفات المورفولوجية واختبار قوة التخمر التعرف على العديد من السلالات المعزولة من العنب والأناناس والأرز المخمر على أنها *Saccharomyces cerevisiae* (Mamun *et al*., 2022)، ولتحديد قدرة الخميرة المعزولة من الفواكه المحلية على التخمير فقد تمكن (Musa *et al*., 2023) من عزل ثلاثة أنواع مختلفة من الخميرة من المانجو والأناناس والتمر، وتبين أن هذه العزلات الثلاثة قادرة على تخمير الكربوهيدرات.

وجد في الدراسات المرجعية زيادة في الكتلة الحيوية لخميرة الخبز بمعدل 0.9% عند استخدام مصل الجبن بتركيز 45%، بينما تضاعفت الكتلة الحيوية ثلاث مرات عند زيادة مسحوق حبة البركة من 0-8% (Gashgari, 2007). وفي دراسة أخرى تم الحصول على كتلة حيوية من مستخلص تفل التفاح بكفاءة تخميرية عالية وتركيز عالي للبروتين تفوق الكتلة الحيوية المنتجة من المولاس، كما أن إضافة عوامل النمو كالفيتامينات والمعادن لمستخلص تفل التفاح ليس ضرورياً لإنتاج خميرة الخبز (Bhushan and Joshi, 2006)، كشفت دراسة أخرى لدى مقارنة مخلفات الفاكهة أن مخلفات التفاح تنتج أكبر كمية من البروتين، يليها مخلفات المانجو وقشر البرتقال الحلو حيث بلغت النسب على التوالي 50.86%، 39.98%، و26.26% (Khan *et al*., 2010).

أهداف البحث:

1- عزل خميرة *Saccharomyces cerevisiae* من مواد غذائية ومحلية وتصنيفها بالاعتماد على خصائصها المزرعية والمجهرية والبيوكيميائية.

2- إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخبز من خلال استخدام وسطين مغذيين، الوسط الأول (bm_1) يحوي على المولاس ومستخلص تفل التفاح بتراكيز مختلفة، والثاني (bm_2) يحوي على العديد من الأملاح المضافة لسائل التخمير المولاسي.

3- مقارنة الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكروبية لكل من (bm_1) و(bm_2)، ومقارنتهم مع الخميرة المنتجة في معمل سكر حمص.

2- المواد وطرائق البحث:

2-1- جمع العينات: تم جمع العينات الغذائية المبينة في الجدول رقم (1) من محافظة حمص:

الجدول (1): مصادر العينات الغذائية

العينة	المصدر	عدد ونوع العينة
النبيذ الحلو	صناعة منزلية- المشرفة- حمص	3 عبوات زجاجية
دبس العنب	صناعة منزلية- حمص	3 عبوات زجاجية
مربى التفاح	صناعة منزلية- حمص	3 عبوات زجاجية
عصير البرتقال الحلو الصناعي	أسواق حمص المحلية	4 عبوات زجاجية
شراب التمر هندي	أسواق حمص المحلية	4 عبوات زجاجية
شراب الجلاب	أسواق حمص المحلية	4 عبوات زجاجية
التمر	أسواق حمص المحلية	3 عبوات بلاستيكية

المولاس: تم تأمينه من معمل سكر حمص.

مخلفات التفاح: تم جمع مخلفات التفاح الأصفر من أسواق حمص المحلية ووضعها في عبوات زجاجية معقمة بعد إزالة الأجزاء الصلبة منها واحضارها إلى المخبر لتحضير المستخلص.

2-2- عزل خميرة الخبز:

تم إجراء التخفيفات المتسلسلة للعينات آنفة الذكر بأخذ 1 مل من العينات السائلة و1 غ من العينات الصلبة إلى أنابيب تحوي 9 مل من مرق البيتون بتركيز 3 غ/ل، استخدمت طريقة الزرع العميق من التخفيف 10^{-3} و10^{-4} في أطباق بتري تحتوي على وسط PDA (Potato Dextrose Agar) وتم التحضين عند الدرجة 30°م لمدة 48 ساعة (Nahvi *et al.*,2002)، اختيرت المستعمرات النامية المفردة ونقلت بشكل مستقل وتحت ظروف معقمة إلى أطباق بتري حاوية على نفس الوسط السابق وبشكل متتالي بغية الحصول على عزلات نقية تماماً ليتم تصنيفها وتشخيصها.

2-3- دراسة الخصائص المزرعية والمجهرية والكيموحيوية:

درست الخصائص المزرعية (حجم المستعمرة، الشكل، اللون، اللمعان، الحافة، السطح)، كما وصفت الخلايا مجهرياً (بيضوية، كروية، أسطوانية) وذلك حسب طريقة (Barnett *et al.*,2002). كما تم دراسة بعض الخصائص الكيموحيوية مثل اختبار الكتالاز حسب (Mac Faddin,1980)، واختبار تخمر السكريات حسب (Kourkoutas *et al.*,2001)، واختبار حلمهة النشاء حسب (Neama,2013).

2-4- اختبار نفاشية العجين:

حيث تم تنشيط العزلات السبع التابعة للجنس *Saccharomyces cerevisiae* بأخذ عدد من المستعمرات بواسطة الإبرة اللاقحة إلى أنابيب (سبعة أنابيب) تحتوي على الماء الدافئ والسكر والتحضين لمدة 24 ساعة عند 30°م، وفي اليوم التالي أضيفت محتويات الأنبوب لـ 50 غ من الدقيق وجهزت عجينة طرية باستخدام الماء الدافئ، نقلت العجينة إلى كؤوس مدرجة حضنت عند 30°م لمدة 120 دقيقة (Ma'Aruf *et al.*, 2011). اختيرت العزلة التي أعطت أعلى نفاشية من أجل إنتاج الكتلة الحيوية.

2-5- إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخبز:

تم إنتاج الكتلة الحيوية باستخدام طريقة التخمير المغمور وذلك باستخدام وسطين مغذيين، الوسط الأول مكون من المولاس ومستخلص تفل التفاح، والوسط الثاني تركيبي مكون من عدد من الأملاح المضافة لسائل التخمر المولاسي.

2-6- تحضير وسط مولاس الشوندر السكري: أجريت عليه عمليات التحضير الأولي من تمديد وتسخين وتحميض. وضُبط تركيز المواد الصلبة الذوابة فيه عند 12%، ودرجة حموضة PH=4.8 (باستخدام محلول 1 عياري من حمض كلور الماء HCL أو ماءات الصوديوم NaOH). (Ettler *et al*., 1991)

2-7- تحضير مستخلص تفل التفاح: تم تنعيم وطحن مخلفات التفاح إلى مسحوق ناعم، ثم التخفيف بالماء المقطر بنسبة 1:3 وغليه لمدة نصف ساعة ثم الترشيح، بعد ذلك تم تعقيم المستخلص بالأوتوغلاف عند درجة حرارة 121°م لمدة 20 دقيقة (Bhushan and Joshi, 2006) ضُبط تركيز المواد الصلبة الذوابة فيه عند 12%. أضيف إلى المولاس السابق بنسبة (40%، 50%، 60%). وقدرت المادة الجافة والسكر المرجع والرماد في مستخلص تفل التفاح. (AOAC, 2005)

2-8- تحضير الوسط التركيبي المغذي (الثاني):

تم استخدام وسط Eliodório *et al* بعد إجراء بعض التعديلات عليه، حيث يتكون هذا الوسط من:

- مولاس ممدد ومعقم.
- 20 غ غلوكوز.
- 0.66 غ فوسفات ثنائية الأمونيوم
- 3 غ سلفات المغنيزيوم
- 3.5 غ ببتون
- 3 غ خلاصة الخميرة
- 2 غ فوسفات أحادي البوتاسيوم
- 55 غ سكروز

يكمل الحجم إلى 1 لتر ويعدل الـ PH إلى 4.8 والبريكس (12) ويوزع على حوجلات وتعقم في الأوتوغلاف عند الدرجة 121° م لمدة 20 دقيقة. (Eliodório *et al*.,2023)

2-9- المادة الحيوية: خميرة *Saccharomyces cerevisiae* المعزولة من عصير البرتقال الحلو الصناعي. والتي أعطت أعلى نفاشية من بين العزلات السبع، أضيفت بنسبة 6%. (Bhushan and Joshi, 2006)

2-10- عملية التخمير والتصفية: استخدمت طريقة التخمير المغمور، حيث وزع الوسط المغذي **(الأول)** الحاوي على المولاس ومستخلص تفل التفاح بنسب (40%، 50%، 60%) في دوارق مخروطية سعة 500 مل بمعدل 250 مل في كل دورق، ثم لقحت الدوارق بخميرة الخبز المعزولة من عصير البرتقال الحلو الصناعي (YOJ) بحجم لقاحة 6%، وحضنت بحاضنة هزازة دورانية (200 دورة في الدقيقة) لمدة 24 ساعة. حددت الكتلة الحيوية للخميرة بالطرد المركزي (5000 دورة في الدقيقة لمدة 15 دقيقة) لمرق التخمير باستخدام أنابيب طرد مركزي موزونة ثم غسلت الخلايا بالماء المقطر ثلاث مرات (Acourene *et al*.,2007) ثم حفظت في البراد على درجة حرارة 4° م لإجراء الاختبارات اللازمة. وبنفس الطريقة لدى استخدام الوسط الثاني. قورنت الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكروبية للكتل الحيوية الناتجة من الوسطين.

3-اختبارات الكتلة الحيوية الناتجة بعد الاكثار:

3-1-الاختبارات الفيزيائية:

3-1-1-قياس قوة التخمر والرفع Fermentation Force: باستخدام جهاز **Fermentograph SJA** الموجود في معمل خميرة حمص، وذلك لعجين محضر من 280غ من الدقيق مع 160 مل من الماء، و 5 غ خميرة الخبز المعزولة، حيث تم قياس قوة التخمر للعجين في حاضنات الجهاز الثلاث عند درجة الحرارة 35° م لمدة 3 ساعات حيث تؤخذ قراءة الجهاز الدالة على حجم غاز CO_2 المنطلق كل ساعة، ومن ثم يعاد ضغط العجين بعد كل ساعة من أجل التخلص من الغاز، ويجمع حجم الغاز المنطلق خلال الساعات الثلاث، ويعبر الحجم الناتج عن قوة التخمر. (Švec and Hrušková,2004)

3-1-2-قياس المادة الجافة (%) Dry matter Measurement: باستخدام طريقة التجفيف بالفرن على درجة حرارة 105°م ولمدة ثلاث ساعات وحتى ثبات الوزن، وذلك وفقاً لطريقة AOAC 925.10 (AOAC, 2005)

3-1-3-تقدير الرماد (%) Ash Determination: تم تقدير النسبة المئوية للرماد على درجة حرارة 525°م لمدة ثلاث ساعات وحتى ثبات الوزن، وذلك وفقاً لطريقة AOAC 923.03 (AOAC, 2005)

3-1-4-تقدير المادة الصلبة الذوابة (%) TSS (Total Soluble Solids): تم قياس المادة الصلبة الذوابة للكتلة الحيوية الناتجة بعد الإكثار باستخدام جهاز Brix الموجود في مخبر علوم الأغذية، وذلك وفقاً لطريقة AOAC 932.12 (AOAC, 2005)

3-2-الاختبارات الكيميائية:

تقدير البروتين الخام (%) Crude protein Determination: حددت النسبة المئوية للكتلة الحيوية الناتجة باستخدام طريقة كلداهل، وذلك وفقاً لـ AOAC 988.05 (AOAC, 2019)

3-3-الاختبارات الميكروبية:

-**التعداد العام:** من خلال أخذ 1 غ من الكتلة الحيوية النامية بعد الاكثار وإجراء التخفيفات المتسلسلة ثم الزرع العميق من التخفيف 10^{-3} و 10^{-4} في أطباق بتري تحوي على وسط الآغار المغذي (Nutrient Agar)، والتحضين عند درجة حرارة 37°م وبعد انقضاء 24-48 ساعة يتم عد المستعمرات النامية على الطبق. (O'Brien *et al*.,2004)

-**الكشف عن الـ *E.coli***: عن طريق أخذ 1 غ من الكتلة الحيوية وإجراء التخفيفات المتسلسلة ثم الزرع العميق من التخفيف 10^{-3} و 10^{-4} في أطباق بتري تحوي على وسط EMB (Eosin Methylene Blue)، والتحضين عند درجة حرارة 37 °م لمدة 48- 24 ساعة. (O'Brien *et al*.,2004)

التحليل الإحصائي:

تم إجراء ثلاث مكررات لكل اختبار، وعبر عن النتائج التي تم التوصل إليها باستخدام المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري، أجري التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS statistics حيث استخدم تحليل التباين باتجاه واحد (One Way ANOVA) وتمت المقارنة بين المتوسطات باعتماد اختبار دنكان (Duncan) المتعدد الحدود لتحديد الفروق المعنوية بين المتوسطات وتقدير قيمة أقل فرق معنوي عند مستوى ثقة ($P\leq0.05$)، وذلك لدراسة تأثير إضافة مستخلص تفل التفاح بعدة تراكيز (40-50-60)% وأيضاً لدراسة تأثير إضافة الأملاح لسائل التخمر المولاسي في إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخبز *S. cerevisiae* المعزولة محلياً.

النتائج والمناقشة

نتائج تركيب مستخلص تفل التفاح:

نلاحظ من الجدول رقم (2) أن كمية السكر المرجع في مستخلص تفل التفاح المستخدم بلغت 0.68 % والمادة الجافة 4.6%، والرماد 0.014%، والمادة الصلبة الذوابة 5.8%

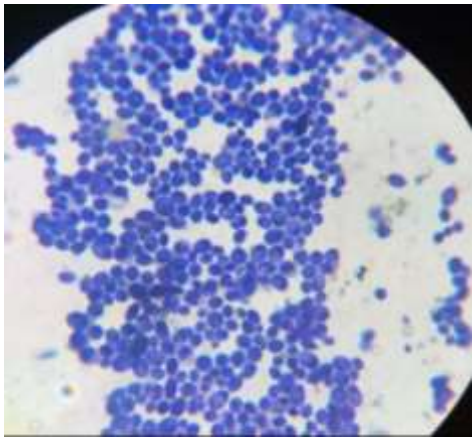
الجدول (2): تركيب مستخلص تفل التفاح

السكر المرجع %	0.68
المادة الجافة %	4.6
الرماد %	0.014
% TSS	5.8

نتائج العزل: تم الحصول على 7 عزلات نقية من الخميرة وهي **(YD- YJ- YDH – YA – YGM – YW- YOJ)** من المصادر الغذائية التالية على التوالي: عصير البرتقال الحلو الصناعي – النبيذ الحلو- دبس العنب- التفاح – شراب التمر هندي- شراب الجلاب-التمر.

نتائج دراسة الخصائص المزرعية والمجهرية: فحصت العزلات النامية باستخدام المجهر الضوئي وبالقوة (10، 40، X100) كما هو موضح بالشكل رقم (2) حيث تلاحظ الخلايا البيضوية تحت المجهر، أما الشكل رقم (1) يوضح مستعمرات الخميرة على وسط PDA. وتبين خلال الفحص المجهري أنها *Saccharomyces cerevisiae* حيث لوحظ فيها الخلايا الأحادية المفردة، كروية أو بيضوية الشكل موجبة الغرام، كما أمكن رؤية الخلايا المتبرعمة، وكانت المستعمرات ذات لون أبيض كريمي وسطح أملس. وهذا يطابق ما وصفه (Hammo, 2013)

الشكل (1): مستعمرات الخميرة النامية



الشكل (2): شكل خلايا الخميرة تحت المجهر الضوئي

نتائج الاختبارات الكيموحيوية:

-**اختبار الكتالاز:** أظهرت نتائج هذا الاختبار قدرة جميع العزلات على تحرير أنزيم الكتالاز وبنسبة 100%. استدل على النتيجة الموجبة بظهور فقاعات غازية بسبب تحلل البيروكسيد إلى غاز الأوكسجين والماء. تتفق هذه النتائج مع (Jonson, 2012) الذي ذكر في دراسته قدرة *S. cerevisiae* على تحليل البيروكسيد إلى ماء وغاز الأوكسجين.

-**اختبار تخمر السكريات:** بينت النتائج أن جميع العزلات كانت قادرة على تخمير السكريات (غلوكوز، مالتوز، سكروز، مانوز، كلاكتوز) وبنسبة 100% حيث تغير لون الوسط من اللون الأحمر إلى اللون الأصفر دلالة على تخمر السكر. تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Mpofu *et al*., 2008)

-**اختبار حلمهة النشاء:** أظهرت النتائج عدم قدرة جميع العزلات على تكوين مركبات الاميلود كما لم تتمكن من تحليل النشاء. وهذه النتائج متوافقة مع (Kakhaya, 2009) والذي أشار في دراسته لخميرة *S. cerevisiae* أنها غير قادرة على تحليل النشاء.

4-5-نتائج اختبار نفاشية العجين: حيث وجد أن أقوى العزلات هي المعزولة من YOJ وأضعفها كان المعزولة من YD. كما هو موضح في الجدول رقم (3)، الذي يبين نسبة ارتفاع العجين من جراء استخدام الخمائر المعزولة من المواد الغذائية المدروسة.

الجدول (3): نسبة ارتفاع العجين للخمائر المعزولة

العزلات	ارتفاع العجين%
YOJ	270
YW	260
YGM	250
YA	240
YDH	220
YJ	180
YD	175

لذلك اختيرت العزلة YOJ لأنها أعطت أعلى نفاشية لإنتاج الكتلة الحيوية من خميرة الخبز.

4-6-نتائج الاختبارات الفيزيائية والكيميائية للكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الأول (المولاس مع مستخلص تفل التفاح):

يبين الجدول رقم (4) قيم المادة الجافة، الرماد، قوة التخمر، ونسبة البروتين، ونسبة المادة الصلبة الذوابة في الكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الأول.

الجدول (4): نتائج الاختبارات الفيزيائية والكيميائية للكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الأول

مكونات وسط التخمر	المادة الجافة %	الرماد %	قوة التخمر سم^3	البروتين %	% TSS
40% تفاح،60% مولاس	23	0.128	2400	51	4.8
50%تفاح، 50% مولاس	28	0.14	2600	48	4.5
60%تفاح، 40% مولاس	29	0.132	2800	52	4.3

عند استخدام مستخلص تفل التفاح بنسبة 60% بلغت قيمة المادة الجافة 29% وقوة التخمر 2800 سم^3 بينما في معمل خميرة حمص تتراوح قيمة المادة الجافة بين (29-32)% وقوة التخمر بحدود 2200-3000 سم^3، والبروتين يتراوح من 40-46%.

4-7-نتائج الاختبارات الميكروبية للكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الأول:

يبين الجدول رقم (5) نتائج التعداد العام والـ *E.coli* في الكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الأول.

الجدول (5): نتائج الاختبارات الميكروبية للكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الأول

مكونات وسط التخمر	التعداد العام عدد الخلايا في 1 غ	الـ *E.coli* عدد الخلايا في 1 غ
40% تفاح، 60% مولاس	$10^9 \times 5.4$	150
50% تفاح، 50% مولاس	$10^9 \times 6.9$	125
60% تفاح، 40% مولاس	$10^9 \times 7.3$	164

ويوضح الجدول رقم (6) مقارنة نتائج الوسط الأول مع نتائج معمل سكر حمص (المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري)

الجدول (6): مقارنة نتائج الوسط الأول مع نتائج معمل سكر حمص

الصفة المدروسة/ وسط التخمير	النسبة الأولى (40%تفاح، 60%مولاس)	النسبة الثانية (50%تفاح، 50%مولاس)	النسبة الثالثة (60%تفاح، 40%مولاس)	النسبة الرابعة (وسط معمل سكر حمص)	المعنوية
قوة التخمر	2400±2 d	2600±2 c	2800±2 a	2700±2 b	
البروتين	51±2 a,b	48±2 b	52±2 a	43±1 c	
المادة الجافة	23±2 b	28±2 a	29±2 a	30.3±1.6 a	
الرماد	0.128±0.002 c	0.14±0.02 c	0.132±0.002 c	7.53±0.21 a	
TSS	4.6±0.5 a,b	4.6±0.4 a,b	4.4±0.3 b	4.6±0.5 a,b	
E.coli	150±2 b	125±2 d	164±2 a	130±2 c	
التعداد العام*10^9	5.4±2	6.9±2	7.3±2	7.5±0.4	NS

تدل الأحرف المختلفة ضمن السطر الواحد على وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية $P\leq0.05$

NS: تعني لا توجد فروق معنوية عند مستوى معنوية $P\leq0.05$.

نلاحظ من بيانات الجدول رقم (6) أنه عند إضافة النسب المختلفة من مستخلص تفل التفاح لسائل التخمر المولاسي ظهرت فروق معنوية بين جميع النسب بالنسبة لقوة التخمر، وظهرت أيضاً فروق معنوية بين النسب المختلفة من مستخلص تفل التفاح عند مقارنتها مع وسط معمل سكر حمص. حيث تتفوق النسبة الثالثة (60% تفاح، 40% مولاس) على جميع النسب حيث سجلت أعلى قيمة تخمر (2800 سم^3). أي أنه مع ارتفاع نسبة مستخلص تفل التفاح تزداد قوة التخمر. بالنسبة لقيمة البروتين كان هناك فروق معنوية عند مقارنة وسط معمل سكر حمص مع النسبة الأولى والثانية والثالثة، وظهرت أيضاً فروق معنوية بين النسبة الثانية والثالثة، حيث تفوقت النسبة الثالثة على وسط معمل سكر حمص الذي بلغ قيمة البروتين عنده (43 %) وأيضاً تفوقت النسبة الثالثة على النسبة الأولى والثانية حيث بلغت أعلى قيمة للبروتين (52 %)، ويعزى سبب تفوق النسبة الثالثة أنه مع ارتفاع نسبة مستخلص تفل التفاح في وسط التخمر تزداد قيمة البروتين، وهذا يتوافق مع نتائج (Khan *et al.*, 2010) الذي حصل على نسبة عالية من البروتين 58.62% و 50.86 % من خلال استخدام قشور الموز وتفل التفاح على التوالي في تنمية الخميرة. بالنسبة للمادة الجافة ظهرت فروق معنوية بين النسبة الأولى والثانية والأولى والثالثة والأولى والرابعة، في حين لم يظهر هناك فروق معنوية بين النسبة الثالثة والرابعة، وبين النسبة الثانية والرابعة. حيث وجد أنه عند استخدام مستخلص تفل التفاح بنسبة 60 % بلغت قيمة المادة الجافة (29%) حيث تتوافق هذه القيمة مع قيمة وسط معمل سكر حمص الذي تتراوح من (29-32%). وبالنسبة للرماد ظهرت فروق معنوية بين النسبة الأولى والرابعة والثانية والرابعة والثالثة والرابعة. في حين لم يظهر فروق معنوية بين أول ثلاث نسب. عند استخدام تركيز 60% تفاح كانت قيمة الرماد (0.132%) وهذا يتوافق مع نتائج (Ojokoh and Uzeh, 2005) الذي حصل على نسبة رماد 0.16% عند استخدم مستخلص ثمار البابايا في تنمية الخميرة. وأما بالنسبة لنتائج *E.coli* سجلت فروق معنوية بين جميع النسب، وجميعها كانت ضمن الحدود القصوى للمواصفة القياسية السورية رقم /2179/ لعام 2007. حيث أنه مع زيادة تركيز مستخلص تفل التفاح زادت أعداد *E.coli*، في حين لم يكن هناك أية فروق معنوية في نتائج التعداد العام، حيث لوحظ ازدياد العدد الإجمالي للبكتيريا مع ازدياد تركيز مستخلص تفل التفاح، حيث كانت جميعها ضمن الحدود التي سمحت بها المواصفة القياسية

السورية رقم /143/ لعام 1990، وتقترب هذه النتائج من نتائج (Ojokoh and Uzeh, 2005) حيث وجد أن عدد الخلايا القابلة لإعادة النشاط بلغت 7.10×10^7 عند التحضين لمدة 48 ساعة.

نتائج الاختبارات الفيزيائية والكيميائية للكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الثاني (التركيبي المغذي):

يبين الجدول رقم (7) قيم المادة الجافة، الرماد، قوة التخمر، ونسبة البروتين ونسبة المادة الصلبة الذوابة في الكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الثاني

الجدول (7): نتائج الاختبارات الفيزيائية والكيميائية للكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الثاني

الاختبارات	المادة الجافة%	الرماد%	قوة التخمر سم^3	البروتين %	% TSS
الوسط التركيبي المغذي	30	2.5	2000	37	5.1

نلاحظ من الجدول أن قيمة المادة الجافة 30%، وقوة التخمر 2000 سم^3، بينما في معمل خميرة حمص تتراوح المادة الجافة (29-32) % وقوة التخمر بحدود 2200-3000 سم^3

نتائج الاختبارات الميكروبية للكتلة الحيوية الناتجة من تخمير الوسط الثاني (التركيبي المغذي):

نتائج التعداد العام بلغت $5.47*10^9$ CFU/g وهي ضمن الحدود التي سمحت بها المواصفة القياسية السورية رقم /143/ لعام 1990، أما نتائج الـ *E.coli* فقد بلغت 107 CFU/g وهي ضمن الحدود القصوى للمواصفة القياسية السورية رقم /2179/ لعام 2007

يوضح الجدول رقم (8) مقارنة نتائج الوسط الثاني مع نتائج وسط معمل سكر حمص ومع نتائج أفضل نسبة من مستخلص تفل التفاح (المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري)

الجدول (8): مقارنة نتائج الوسط الثاني مع نتائج وسط المعمل ونتائج أفضل نسبة من مستخلص تفل التفاح

الصفة المدروسة/ وسط التخمير	المجموعة الأولى الوسط التركيبي المغذي	المجموعة الثانية وسط معمل سكر حمص	المجموعة الثالثة النسبة الثالثة للتفاح (60%تفاح،40% مولاس)	المعنوية
قوة التخمر	2000 ± 2^c	2700 ± 2^b	2800 ± 2^a	
البروتين	37 ± 2^c	43 ± 1^b	52 ± 2^a	
المادة الجافة	30±2	30.3±1.6	29±2	NS
الرماد	2.5 ± 0.4^b	7.53 ± 0.21^a	0.132±0.002c	
TSS	5.1 ± 0.4^a	4.6±0.5a,b	4.4 ± 0.3^b	
E.coli	107 ± 2^c	130 ± 2^b	164 ± 2^a	
التعداد العام*10^9	5.47±0.36	7.5±0.4	7.3±2	NS

تدل الأحرف المختلفة ضمن السطر الواحد على وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية $P\leq0.05$

NS: تعني لا توجد فروق معنوية عند مستوى معنوية $P\leq0.05$.

من بيانات الجدول رقم (8) يتضح لنا أنه توجد فروق معنوية بالنسبة لقوة التخمر بين المجموعات الثلاث، حيث تفوقت كل من المجموعة الثانية والثالثة على المجموعة الأولى من حيث قوة التخمر. أما بالنسبة لقيمة البروتين كان هناك أيضاً فروق معنوية بين المجموعات الثلاث، حيث تفوقت كل من المجموعة الثانية والثالثة على المجموعة الأولى، أي أن إضافة مستخلص تفل التفاح لسائل التخمير المولاسي أعطى أعلى قيمة من البروتين 52%. وبالنسبة للرماد ظهرت فروق معنوية بين المجموعات الثلاث، حيث تفوق وسط معمل سكر حمص (7.53%) على كل من الوسط التركيبي المغذي والنسبة الثالثة للتفاح. بالنسبة للمادة الصلبة الذوابة فقد ظهرت فروق معنوية بين الوسط التركيبي المغذي والنسبة الثالثة للتفاح. أما بالنسبة لنتائج *E.coli* فقد ظهرت فروق معنوية بين المجموعات الثلاثة، وتفوقت المجموعة الثالثة على بقية المجموعات.

الاستنتاجات:

1. عزلت خميرة الخبز من مواد غذائية ومحلية (النبيذ الحلو، مربى التفاح، عصير البرتقال الحلو الصناعي، التمر، شراب الجلاب، شراب التمر هندي، دبس العنب) وصنفت في سبع عزلات على أنها تتبع لجنس *Saccharomyces cerevisiae* وذلك من خلال دراسة خصائصها المزرعية والمجهرية والبيوكيميائية.
2. تم اختيار العزلة (YOJ) من خلال اختبار نفاشية العجين، حيث أعطت هذه العزلة أعلى نسبة لارتفاع العجين (270%) مقارنة ببقية العزلات.
3. عند إكثار العزلة (YOJ) في وسط المولاس ومستخلص تفل التفاح فقد ظهرت فروق معنوية بين تراكيز التفاح الثلاث بالنسبة لقوة التخمر، حيث تفوق تركيز 60% تفاح الذي بلغت قوة التخمر عنده 2800 سم^{3}على بقية تراكيز التفاح وعلى وسط معمل سكر حمص وعلى الوسط التركيبي المغذي، حيث لوحظ أنه مع زيادة تركيز مستخلص تفل التفاح تزداد قوة التخمر.
4. حصلنا على أعلى قيمة للبروتين 52% عند استخدام تركيز 60% من مستخلص تفل التفاح حيث تفوق هذا التركيز على بقية تراكيز التفاح وعلى وسط معمل سكر حمص وعلى الوسط التركيبي المغذي، فقد ظهرت الفروق المعنوية لقيم البروتين بين تركيز 60% تفاح ووسط معمل سكر حمص والوسط التركيبي المغذي.
5. عند إضافة مستخلص تفل التفاح للمولاس بأي بتركيز كان (40-50-60)% حصلنا على أعلى نسبة بروتين وأعلى قوة تخمر مقارنة مع الوسط الثاني (التركيبي المغذي).

المراجع:

Acourene, S., Khalid, A. K., Bacha, A., Tama, M., & Taleb, B. (2007). Optimization of bakery yeast production cultivated on musts of dates. *Journal of Applied Sciences Research*, **3**(10): 964-971.

AOAC International. (2005). *Official Methods of Analysis* (18th ed.). Method 925.10: Moisture in Food. Gaithersburg, MD: AOAC International.

AOAC International. (2005). *Official Methods of Analysis* (18th ed.). Method 923.03: Ash in Flour. Gaithersburg, MD: AOAC International.

AOAC International. (2005). *Official Methods of Analysis* (18th ed.). Method 932.12: Total Soluble Solids in Fruits and Vegetables. Gaithersburg, MD: AOAC International.

AOAC International. (2019). *Official Methods of Analysis* (21st ed.). Method 988.05: Protein in Food- Kjeldahl Method. Gaithersburg, MD: AOAC International.

Atiyeh, H., & Duvnjak, Z. (2003). Production of fructose and ethanol from cane molasses using *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 36858. *Acta biotechnologica*, **23**(1), 37-48.

Barnett, J. A., Payne, R. W. and Yarrow, D (2002). *Yeast: characteristics and identification,3rd edition ed*. Camridge: Camridge University press.

Bekatorou, A., Psarianos, C., & Koutinas, A. A. (2006). Production of food grade yeasts. *Food Technology & Biotechnology*, **44**(3): 407-415.

Bhushan, S., & Joshi, V. K. (2006). Baker's yeast production under fed batch culture from apple pomace. *Journal of Scientific & Industrial Research*, **65**(1): 72-76.

Bhushan, S., Kalia, K., Sharma, M., Singh, B., & Ahuja, P. S. (2008). Processing of apple pomace for bioactive molecules. *Critical reviews in biotechnology*, **28**(4): 285-296.

El-Gewely, M. R. 2007. *Biotechnology Annual Review.* Elsevier, Pp 315- 317.

Eliodório, K. P., Cunha, G. C. D. G. E., Lino, F. S. D. O., Sommer, M. O. A., Gombert, A. K., Giudici, R., & Basso, T. O. (2023). Physiology of *Saccharomyces cerevisiae* during growth on

industrial sugar cane molasses can be reproduced in a tailor-made defined synthetic medium. *Scientific Reports*, **13**(1): 10567.

Ettler, P., Martínková, L., Ujcová, E., & Seichert, L. (1991). Application of scale-down experiments in the study of citric acid biosynthesis. *Folia microbiologica*, **36**: 493-497.

Gashgari, R. M. (2007). Single Cell Protein Production by Adding Whey or *Nigella sativa* to Dates Extract. *College of Science, King Saud Uinversity*. Retrieved from https:// fac.ksu.edu.sa.

Gołębiewska, E., Kalinowska, M., & Yildiz, G. (2022). Sustainable use of apple pomace (AP) in different industrial sectors. *Materials*, **15**(5): 1788.

Hammo B. Y. N. S. (2013). Diagnostic and Molecular Genetic study for Yeast of Genus *Saccharomyces* Isolated from Different Sources in Mosul City, *Ph. D. Thesis*. College of Education. University of Mosul.

Jay, J. M. (1996). *Modern Food Microbiology.* Chapman and Hall, New York.

Jonson E. (2012). *Biotechnology*, Springer, Berlin.

Kakhaya T. I. (2009). *Dar Al-Maarefa*, Syria.(in Arabic).

Khan, M., Khan, S. S., Ahmed, Z., & Tanveer, A. (2010). Production of single cell protein from *Saccharomyces cerevisiae* by utilizing fruit wastes. *Nanobiotechnica Universale*, **1**(2): 127-132.

Kourkoutas, Y., Dimitropoulou, S., Marchant, R., Nigam, P. S. N., Banat, I., Kioseoglou, V., ... & Koutinas, A. A (2001). Whey liquid waste of dairy industry as raw material for fermentation with the thermophilic *Kluyveromyces marxianus* IMB3. In. *Proceedings of the 7th International Conference on Environmental Science and Technology, Vol. C, Posters* (Pp 226-233).

Ma'Aruf A, Asyikeen ZN, Sahilah A, Khan AM. (2011). Leavening ability of yeast isolated from different local fruits in bakery product. *Sains Malaysiana*. **40**(12):1413-1419.

Mac Faddin, J. F (1980). Biochemical tests for Identification of Medical bacteria Macro – and micronutrient in alkaline soils. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. **8**: 195-207.

Mamun-Or-Rashid, A. N. M., Lucy, T. T., & Pramanik, M. K. (2022). Isolation, Identification, Optimization of Baker's Yeast from Natural Sources, Scale-Up Production Using Molasses as a Cheap Carbohydrate Source, and Evaluation for Bread Production. *Applied Microbiology*, **2**(3): 516-533.

Mpofu, A., Kock, J. L. F., Pretorious, E. E., Pohl, C. H., & Zvauya, R. (2008). Identification of yeasts isolated from mukumbi, a Zimbabwean traditional wine. *Journal of Sustaniable Development in Africa*, **10**: 88-102.

Musa, U., Jurara, A. F., & Mubarak, A. M. (2023). Isolation, Identification and Leavening Ability of Yeast from Local Fruits. *Asian Journal of Plant Biology*, **5**(1): 33-36.

Nahvi, I., Emtiazi, G., & Alkabi, L. (2002). Isolation of a flocculating *Saccharomyces cerevisiae* and investigation of its performance in the fermentation of beet molasses to ethanol. *Biomass and Bioenergy*, **23**(6): 481-486.

Neama A. (2013). Biochemical tests used in the identification. *College of education for pure sciences, Diyala University*. (In Arabic).

O'Brien, S. S., Lindsay, D., & Von Holy, A. (2004). The presence of *Enterococcus*, coliforms and *E. coli* in a commercial yeast manufacturing process. *International journal of food microbiology*, **94**(1): 23-31.

Ojokoh, A. O., & Uzeh, R. E. (2005). Production of *Saccharomyces cerevisiae* biomass in papaya extract medium. *African journal of Biotechnology*, **4**(11): 1234-1238.

Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A. S., & Hatziloukas, E. (2020). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS microbiology*, **6**(1): 1-31.

Švec, I., & Hrušková, M. (2004). Wheat flour fermentation study. *Czech Journal of Food Sciences*, **22**(1): 17-23.

Vukušić, J. L., Millenautzki, T., Cieplik, R., Obst, V., Saaid, A. M., Clavijo, L., ... & Barbe, S. (2021). Reshaping apple juice production into a zero discharge biorefinery process. *Waste and Biomass Valorization*, **12**: 3617-3627.

Local Production of Bread Yeast from Molasses and Apple Pomace Extract Using Submerged Fermentation Method

Diana Fayad * (1) and Nariman Nema (1)

(1). Faculty of Agricultural Engineering, Homs University, Homs, Syria.

(* Corresponding author: Diana Fayad. E-Mail: dianafayad685@gmail.com).

Received:29/9/2024 Accepted: 21/2/2025

Abstract

The aim of the research was to isolate bread yeast from several food sources (sweet wine, grape molasses, apple jam, artificial sweet orange juice, tamarind syrup, jallab syrup, dates) and classified into seven isolates as Saccharomyces cerevisiae based on their cultural, microscopic and biochemical properties. The yeast isolated from industrial sweet orange juice (YOJ) showed the highest fermentation power in a dough leavening test. The isolated sample was propagated in two media. The first medium (bm_1) is molasses obtained from Homs Sugar Factory after adding different concentrations of apple pomace extract (40-50-60)% using the submerged fermentation method. Physical, chemical and microbial properties of the resulting biomass were estimated. It was found that when adding 60% apple pomace extract to the molasses fermentation liquid, the dry matter value reached 29%, ash 0.132, fermentation strength 2800 cm^3, and the protein value was 52%. Yeast (YOJ) was also propagated using a second medium (bm_2), which is a nutrient compound medium supplemented with many salts added to the molasses fermentation liquid. It was found that the protein value was 37% and its fermentation strength was 2000 cm^3. When comparing the results of the first medium with the results of the Homs Sugar Factory medium, the 60% concentration of apple pomace extract outperformed the rest of the concentrations and the laboratory medium in terms of fermentation strength and protein value. When comparing the results of the second medium (nutrient-rich medium) with the results of the Homs Sugar Factory medium and the results of the best percentage of apple pomace extract (60%), significant differences appeared in terms of fermentation strength and protein value, and the 60% concentration of apple pomace extract was superior to both the synthetic medium and the sugar factory medium.

Keywords: fermentation strength, submerged fermentation, dough leavening, molasses, apple pomace.