أمثَلة ظروف إنتاج خميرة الخبّاز (*Saccharomyces cerevisiae*) على وسط عصير الجزر باستخدام منهجية سطوح الاستجابة

محمد نداف [1] ونسرين نقشو[2] وامانى يونس* [1]

(1). قسم علوم الأغذية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، سورية.

(2). الهيئة العامة للتقانة الحيوية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق، سورية.

(* للمراسلة: امانى يونس، البريد الإلكتروني: amanyyounes996@gmail.com)

تاريخ الاستلام:2024/02/19 تاريخ القبول: 2024/06/26

الملخص

نفذ هذا البحث في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية في جامعة دمشق خلال الفترة 2022-2023، وكان هدف هذا البحث هو تحديد ظروف التخمير المثلى لإنتاج أعلى معدل ممكن من الكتلة الحيوية لخميرة الخبّاز *S.cerevisiae* باستخدام عصير الجزر كمصدر وحيد للكربون. وتم استخدام طريقة منهجية سطوح الاستجابة Response surface methodology(RSM) لتحديد أفضل الظروف لإنتاج أعلى كمية ممكنة من الكتلة الحيوية للخميرة، حيث بلغ مردود الكتلة الحيوية للخميرة (22.54غ/ل) بعد 24 ساعة من التخمير في ظروف التخمير المثالية الآتية /درجة الحرارة 30 °م/، /درجة الpH(5)/، عند سرعة دوران200 دورة في الدقيقة في أثناء عملية التخمير. كما كانت قوة تخمير الكتلة الحيوية الناتجة ممتازة حسب المواصفة القياسية السورية إذ بلغ حجم Co_2 الناتج 2900 (cm^3).

الكلمات المفتاحية: خميرة الخبّاز (*Saccharomyces cerevisiae*)، الكتلة الحيوية، عصير الجزر، درجة الحرارة، درجة الpH.

المقدمة:

يعد تاريخ ارتباط الخميرة بالمجتمع البشري مرادفاً لتطور صناعة الخبز والبيرة والنبيذ كسلع غذائية ومشروبات عالمية، نشأت منذ حوالي 5000 عام، إذ بدأ علم الميكروبات لهذه المنتجات في منتصف القرن السابع عشر مع الملاحظات الأولى لخلايا الخميرة بواسطة العالم الهولندي أنتوني فان ليفينهوك (Querol and Fleet, 2006).

ويعبّر التخمير عن تحول كيميائي حيوي للمواد الخام بواسطة مجموعة معقدة ومستقرة من الكائنات الحية الدقيقة، والتي تعمل بشكل أساسي على تحويل السكريات إلى أحماض بسيطة وكحولات وغاز ثاني أكسيد الكربون مما يحسن نكهة وقوام ورائحة المنتجات المتخمرة ويطيل عمرها الافتراضي(Palla *et al*.,2020).

خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* عبارة عن فطريات وحيدة الخلية، تتكاثر خضرياً عن طريق التبرعم متعدد الأطراف وجنسياً عن طريق الأبواغ الأسكية(الزقية)، وتكون الخلايا الخضرية كروية الشكل أو بيضاوية الشكل أو أسطوانية وتظهر بلون كريمي بينما يكون السطح أملس ومسطح (Stewart, 2014).

وتتنوع التطبيقات البيوتكنولوجية للخمائر وبخاصة خميرة *S.cerevisiae* فهي أساس في صناعة منتجات متخمرة هامة مثل صناعة الخبّاز والبيرة والنبيذ والكحول الحيوي(Perez- torrado *et al*., 2015) ومجموعة متنوعة من المركبات، بما في ذلك الكحول والإسترات والألدهيدات والأحماض التي تساهم في الخصائص الحسية للأطعمة أو المشروبات(Stewart, 2014).

يتم إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخبّاز *S.cerevisiae* باستخدام مخمرات حيوية يتم بواسطتها التحكم في ظروف النمو من تهوية ودرجة حرارة ورقم الpH وإزالة الرغاوي(Saranraj *et al*., 2017).

وإن عملية إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة تتم في ظروف هوائية إذ يعد توفير الأوكسجين ضرورياً لإنتاج الكتلة الحيوية في عملية إكثار الخميرة (Bekatorou et al.,2006).

ويتأثر إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز بعدة عوامل منها: درجة الحرارة ودرجة الpH. إذ تنمو معظم سلالات *S.cerevisiae* في أي درجة حرارة بين 5 و 40 درجة مئوية، وتعتمد درجة الحرارة المثلى لأقصى معدل نمو على السلالة، وتكون بشكل عام في مجال 25–35 درجة مئوية (Stewart, 2014).

ويعد مجال درجات الpH بين 4.5 - 5.5 هو الأمثل لنمو خلايا الخمائر، في حين أن خميرة *S.cerevisiae*من الأحياء الدقيقة القادرة على تحمل مجال درجات الpH بين 3-3.5، وهذا يساعد على تقليل التلوث الميكروبي على المستوى الصناعي(صادق،2005).

يتضمن إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخبّاز عموماً المراحل التالية: مرحلة الإكثار المخبري يليها مرحلة الإكثار في المعمل، ثم عملية فرز سائل التخمير وغسيل الخميرة، والتصفية ويتبعها التقطيع والقولبة والتغليف(Rai,2010).

وتقدر قيمة سوق الخميرة العالمية بنحو 3.9 مليار دولار أمريكي في عام 2020، ومن المتوقع أن تصل إلى 6.1 مليار دولار أمريكي بحلول عام 2025، مسجلاً معدل نمو سنوي مركب قدره 9.6 % (Fadel, 2020).

وإن زيادة طلب الكتلة الحيوية للخميرة بكميات كبيرة يدفعنا لاستخدام ركائز اقتصادية، والركيزة المستخدمة حالياً في العالم لإنتاج خميرة *S.cerevisiae* هي المولاس الناتج من صناعة السكر، نظراً لكونه مادة متوفرة ورخيصة الثمن ويمثل ركيزة مستقرة وقابلة للتخزين. ولكن ارتفاع سعر المولاس في السنوات الأخيرة نتيجة استخدامه في تغذية الحيوانات وإنتاج الكحول الإيثيلي(Arshad et al., 2008)، وتركيبته المتغيرة التي تعتمد على ظروف إنتاج وإجراءات تكرير السكروز وافتقاره لبعض المركبات الأساسية لنمو الخميرة كالنيتروجين (أقل من 3%) وبعض الفيتامينات اللازمة لتحسين نمو الخميرة (كالثيامين والبانتوثينات والبيوتين)(Perez-torrado *et al*., 2015) دفع للبحث عن وسط بديل أو إضافي له. ولذلك تمت في هذا البحث دراسة إمكانية استخدام عصير الجزر لإنتاج مردود جيد من الكتلة الحيوية للخميرة. فالسكر السائد في عصير الجزر هو السكروز وهو قابل للتخمير بواسطة خميرة *S.cerevisiae*(Khomich et al.,2020)، كما يحتوي على فيتامينات الثيامين(B1) والريبوفلافين(B2) والنياسين(B3) بنسب(0.04، 0.02،0.2) مغ/100غ على التوالي إضافة لبعض المعادن كالفسفور والبوتاسيوم، ونسبة الكربوهيدرات فيه 6% (Sharma *et al*.,2012).

تم تنفيذ بحث محلي من قبل (Sawsan et al., 2021) لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة على وسط عصير العنب حيث وصلت الإنتاجية إلى (41.44 غ/لتر) بعد 12 ساعة من التخمر، في الظروف المثالية التالية (درجة الحرارة 30.11 درجة مئوية)، الرقم الهيدروجيني (4.75).

كما أجريت دراسة بواسطة Ali وآخرون(2017) لإنتاج خميرة الخباز باستخدام التمر كوسط نمو وجد أن الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية تتمثل بدرجة حرارة 32.9 م ودرجة الpH = 5.35 وبلغ مردود الكتلة الحيوية 40 غ/ل بعد 16 ساعة من التخمير. ولم يتم العثور على دراسات سابقة لإنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخبّاز على وسط عصير الجزر.

ونظراً لتعرض سورية لأوضاع اقتصادية صعبة خلال فترة الحرب والحصار الاقتصادي الجائر وتوقف عمل معامل السكر في البلاد، ورافق ذلك توقف معامل الخميرة والتوجه لاستيراد الخميرة. لذا كان تركز الاهتمام بدراسة إمكانية وجود خيار بديل أو إضافي للمولاس يدعم إنتاج الخميرة. وتم اختيار عصير الجزر لأنه يحتوي في تركيبه على سكريات قابلة للتخمير إضافة لغناه بالعديد من العناصر الغذائية اللازمة لنمو خلايا الخميرة، بالإضافة إلى انتشار زراعة الجزر في مختلف أنحاء العالم ومنها سورية التي تعد من الدول المنتجة للجزر(لم يتم العثور في المجموعة الإحصائية 2016-2021 على بيانات خاصة بالمساحات المزروعة بالجزر بمفرده).

وباعتبار عصير الجزر المصدر الوحيد للكربون في هذه الدراسة تم اختبار الظروف المثلى من درجة حرارة ودرجة pH للحصول على أفضل مردود من الكتلة الحيوية لخميرة الخباز باستخدام منهجية سطوح الاستجابة RSM.

يعتمد RSM بالكامل على مبادئ الانحدار المعروفة ومبادئ تحليل التباين التي تمكن المستخدم من اختصار عدد المعاملات وبالتالي تقليل التكلفة وتوفير الوقت والجهد، وتحسين وتطوير العملية أو المنتج قيد الدراسة، وتحديد الظروف المثلى لمتغيرات مدخلات النموذج التي يمكن أن تقدم الحد الأقصى/الأدنى من الاستجابة. ويتم تحديد مدى ملائمة النموذج من خلال معامل التحديد R^2 إذ يشير إلى مدى تطابق البيانات بين النتائج الفعلية والنتائج المتوقعة من خلال النموذج (Reji *et al.*, 2022).

مواد البحث وطرائقه:

الجدول (1) :المواد الكيميائية المستخدمة في البحث

المواد المستخدمة	الشركة المصنعة
مستخلص خميرة	Sigma- Aldrich, Germany. Himedia, India. Scharlau Chemie S.A, SPAIN.
بيبتون نقي	
غلوكوز نقي	
كحول إيتيلي	
حمض كلور الماء (0.1N)	
ماءات الصوديوم NaoH (0.1N)	
اليوريا	
وفوسفات ثنائية الأمونيوم	
حمض الكبريت المركز	
كاشف الأنثرون	
وخلات الرصاص وأوكزالات البوتاسيوم	

تم الحصول على ثمار الجزر من السوق المحلية لمدينة دمشق خلال الفترة 2022-2023(اختيرت الثمار المتضررة فيزيائياً والمتكسرة غير المرغوبة من قبل المستهلكين) وتمت إزالة الأتربة وغسلها جيداً وتقطيعها ثم استخلاص العصير باستخدام عصارة فواكه والترشيح لإزالة الألياف والشوائب ولم تجرى أي عمليات لإزالة اللون، وأجريت الاختبارات التالية:

1-3 : تقدير الرطوبة: أخذ 5 غ من العينة في جفنة بورسلان وتمت عملية التجفيف في فرن التجفيف عند درجة حرارة 105 ^{o}م حتى ثبات الوزن (AOAC,2005) ، وحسبت الرطوبة وفق العلاقة:

$$\text{نسبة الرطوبة\%} = \frac{\text{الفقد في الرطوبة}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

ومنها حسبت نسبة المادة الجافة بالعلاقة: نسبة المادة الجافة= 100 – نسبة الرطوبة%

3-2: تقدير الرماد: تم ترميد العينة باستخدام المرمدة عند درجة حرارة 550 °م حتى الحصول على رماد أبيض اللون (AOAC,2005) وحسبت نسبة الرماد بالعلاقة:

$$\text{نسبة الرماد}\% = \frac{\text{وزن الرماد}}{\text{وزن العينة}} \times 100$$

3-3: تقدير السكريات الكلية: بالطريقة اللونية (الامتصاصية الضوئية) باستخدام كاشف الأنثرون. تم إجراء هذا الاختبار بأخذ 0.5 غ من عصير الجزر وإضافة 50 مل من الماء المقطر، حركت العينة ووضعت في حمام مائي يغلي لمدة 20 دقيقة ثم بردت إلى درجة حرارة الغرفة وأضيف 1مل من خلات الرصاص و0.1 غ من أوكزالات البوتاسيوم ورشحت العينة وأكمل الحجم إلى 50 مل بالماء المقطر. أُخذ 1 مل من الرشاحة لتقدير السكريات الكلية باستخدام كاشف الأنثرون، كما تم تحضير منحنى قياسي من الغلوكوز النقي بتركيز تراوح من 10 إلى 180 جزء في المليون(ppm) وقياس الامتصاص الضوئي عند طول موجة 620 نانومتر باستعمال جهاز المطياف الضوئي Jasco V-530-Japan (Dubois,1956).

3-4: **تقدير المواد الصلبة الذائبة بالماء:** باستخدام جهاز الرفراكتومتر Refractometer-KRUSS (AOAC,2005).

3-5: تقدير الـpH : تم قياسها لعصير الجزر مباشرة باستخدام جهاز pH-meter (AOAC,2005).

3-6- اختبارات إنتاج الكتلة الحيوية:

3-6-1- الحصول على سلالة البادئ وتنشيطها:

استخدمت سلالة نقية مستوردة من قبل جامعة تشرين (*Saccharomyces cerevisiae (ATCC20408/S288c* أوربية المنشأ. ونُشطت السلالة على بيئة مستخلص الخميرة مع الغلوكوز والبيبتون YPG (بيئة صناعية لتنشيط الخميرة) المكونة من (مستخلص خميرة 10غ/ل ، ببتون10غ/ل ، غلوكوز 20 غ/ل) ثم حضنت بحاضنة هزازة دورانية على درجة حرارة 30 °م وسرعة دوران 200 دورة/دقيقة ولمدة 24 ساعة واستخدم هذا المرق لتلقيح أوساط التخمير بنسبة تلقيح 2.5% حجم/حجم في كل مرة (Kocher,2013).

3-6-2- تحضير وسط النمو (عصير الجزر):

استخدم عصير الجزر المتحصل عليه بعد الترشيح وأضيفت له المغذيات (اليوريا بنسبة 0.12 % ، وفوسفات ثنائية البوتاسيوم بنسبة 0.34 %) وضبطت قيم الـpH عند (4 و4.5 و 5) ثم عُقّم الوسط على درجة حرارة 121 م° ولمدة 15 دقيقة باستعمال جهاز الأوتوكلاف(Ramos-Andr´es *et al*., 2021).

3-6-3- عملية التخمير:

تم توزيع بيئات التخمير(عصير الجزر بعد إضافة المغذيات السابقة) في دوارق مخروطية سعة 500 مل بمعدل 200 مل في كل دورق ثم لُقحت الدوارق بالخمائر النامية في بيئة YPG بنسبة 2.5% حجم/حجم ، وحضنت بحاضنة هزازة دورانية لمدة 24 ساعة بسرعة دوران 200 دورة في الدقيقة (Acourene *et al*.,2007).

أجريت الدراسة الحالية وفق ما يلي: اختيار الظروف المثلى لمعاملتين (درجة الحرارة، درجة الـpH الأولي) للحصول على أعلى إنتاجية من نمو خلايا *S.cerevisiae* باستخدام منهجية سطوح الاستجابة RSM.

3-6-4- تحديد الكتلة الحيوية الجافة (المردود):

تم تحديد الكتلة الحيوية الجافة للخميرة بالطرد المركزي 5000 دورة/دقيقة ولمدة 15 دقيقة لمرق وسط التخمير باستخدام أنابيب طرد مركزي موزونة ثم غسلت الخلايا بالماء المقطر ثلاث مرات وتجفف الأنابيب بالفرن على درجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ثم وزنت على ميزان حساس (Acourene *et al*.,2007).

3-6-5- قياس قوة التخمر:

أجري اختبار قياس قوة التخمر لاختبار حيوية الكتلة الناتجة، تم قياس قوة التخمير بجهاز قياس قوة التخمر Fermentograph-SJA ، حيث يؤخذ 2.5غ خميرة (من مرحلة الفرز) وتضاف إلى 280غ دقيق و150مل ماء مقطر و1غ ملح و4غ سكر، ثم يتم العجن وتوضع في حجرة جهاز قياس قوة التخمير بعد مسحها بالزيت، تقاس قوة التخمر في الحاضنات الثلاث المخصصة في الجهاز عند درجة حرارة 35 °م ويستمر عمل الجهاز لمدة 3 ساعات والجهاز مزود بعداد يحسب معدل انطلاق غاز Co2 خلال الزمن(المواصفة القياسية السورية رقم143، 2016).

التحليل الإحصائي:

استخدم برنامج Design Expert لأمثلة ظروف إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة واختير نموذج منهجية سطوح الاستجابة RSM (response surface methodology)، وتقدر القيم المتوقعة من قبل البرنامج الإحصائي بناءً على معالجة النتائج الفعلية المدخلة إليه.

ودُرس كل متغير عند ثلاث مستويات(-1,0,1+) وفق الجدول(2).

الجدول(2) : مستويات المتغيرات المدروسة

مستويات المتغيرات المدروسة	-1	0	1+
درجة الحرارة °م	20	25	30
الـpH	4	4.5	5

النتائج والمناقشة

نتائج الاختبارات الخاصة بعصير الجزر:

يبين الجدول أن عصير الجزر احتوى نسبة من السكريات الكلية والمختزلة والتي تعد وسط لنمو الخميرة، وتتقارب هذه النتائج مع دراسة قام بها (Sharma *et al*.,2012) إذ وجد أن نسبة الرطوبة في الجزر(88.8%) والسكريات الكلية (5.6%) والرماد(1.1%) ويعود هذا الاختلاف في القيم إلى تغير أصناف الجزر بتأثير الظروف البيئية والمعاملات المتبعة وظروف التخزين.

الجدول(3): التركيب الكيميائي لعصير الجزر

الخواص المدروسة	القيمة(%)
الرطوبة	0.11±89.32
المادة الجافة	0.02±10.68
الرماد	0.02±0.823
السكريات الكلية	0.06±6.391
المواد الصلبة الذائبة بالماء	0.02±9.4
قيمة درجة الـpH = 6.3	

* القيم الناتجة متوسط لثلاث مكررات.

2-5- نتائج أمثلة ظروف إنتاج الكتلة الحيوية من عصير الجزر:

عند إجراء الأمثلة تم الحصول على الجدول (4):

الجدول(4): نتائج أمثلة ظروف إنتاج خميرة الخبّاز على وسط عصير الجزر

Run	A: درجة الحرارة	B:pH درجة الـ	الإنتاجية غ /100مل	
			القيمة الفعلية	القيمة المتوقعة
1	25	4.5	1.901	1.89
2	20	4	1.127	1.06
3	20	5	1.45	1.40
4	25	4.5	1.901	1.89
5	25	4.5	1.901	1.89
6	25	5	1.933	1.93
7	20	4.5	1.272	1.39
8	25	4	1.453	1,51
9	25	4.5	1.901	1.89
10	25	4.5	1.901	1.89
11	30	5	2.254	2.29
12	30	4	1.751	1.76
13	30	4.5	2.235	2.19

* القيمة الفعلية متوسط لثلاث مكررات.

أظهر تحليل التباين (ANOVA) أن النموذج المختار من الدرجة الثانية يمثل البيانات التي تم الحصول عليها بشكل كاف. يبين جدول تحليل التباين وهو الجدول(5) تأثير العوامل المدروسة (كل عامل على حدة، ومربع العوامل، والعلاقة بين العوامل) في إنتاجية الكتلة الحيوية للخميرة كما يلي:

1- تأثير العامل المستقل في إنتاجية الكتلة الحيوية للخميرة (Linear effect) :

وهي تتضمن عاملين (درجة الحرارة ودرجة الpH)، فقد لوحظ من الجدول أن قيمة *P* لكل من درجة الحرارة والpH أقل من 0.05 وبالتالي هناك تأثير خطي معنوي لكل من هذين العاملين.

2- تأثير العوامل المربعة في إنتاجية الكتلة الحيوية للخميرة (Squares effect):

وتتضمن عاملين مربعين ^{2}(درجة الحرارة) و ^{2}(درجة الpH) ، ونلاحظ من الجدول أن قيمة P لكل من (^{2}درجة الحرارة) و^2(درجة الpH)) كانت أقل من 0.05 (P<0.05) وهذا يشير إلى تأثير معنوي لهذين العاملين على إنتاجية الكتلة الحيوية للخميرة، إضافة إلى وجود معادلة من الدرجة الثانية بين مربع درجة الpH وإنتاجية الكتلة الحيوية من جهة، ووجود معادلة من الدرجة الثانية بين مربع درجة الحرارة وإنتاجية الكتلة الحيوية من جهة أُخرى.

3- تأثير العوامل المتداخلة في إنتاجية الكتلة الحيوية للخميرة (Interaction effect):

وتتضمن علاقة تداخل بين المتغيرين وهي (pH × درجة الحرارة) ونلاحظ من الجدول أنها علاقة غير معنوية أي لايوجد تفاعل متبادل معنوي بين المتغيرين المدروسين.

وتم تحديد أهمية كل عامل من خلال قيمة F ، حيث لوحظ أن درجة الحرارة كان لها الأثر الأكبر في إنتاجية الكتلة الحيوية.

الجدول(5): تحليل تباين (ANOVA) تأثير العوامل المدروسة من وسط عصير الجزر

مصدر التباين	مجموع المربعات	درجات الحرية df	متوسط مجموع المربعات	F-value	p-value	
Model	1.40	5	0.2797	67.37	< 0.0001	Significant
A-درجة الحرارة	0.9528	1	0.9528	229.52	< 0.0001	
B-pH درجة ال	0.2843	1	0.2843	68.48	< 0.0001	
AB	0.0081	1	0.0081	1.95	0.2052	
A^2	0.0272	1	0.0272	6.55	0.0376	
B^2	0.0705	1	0.0705	16.97	0.0045	
Residual	0.0291	7	0.0042			
Lack of Fit	0.0291	3	0.0097			
Pure Error	0.0000	4	0.0000			
Cor Total	1.43	12				

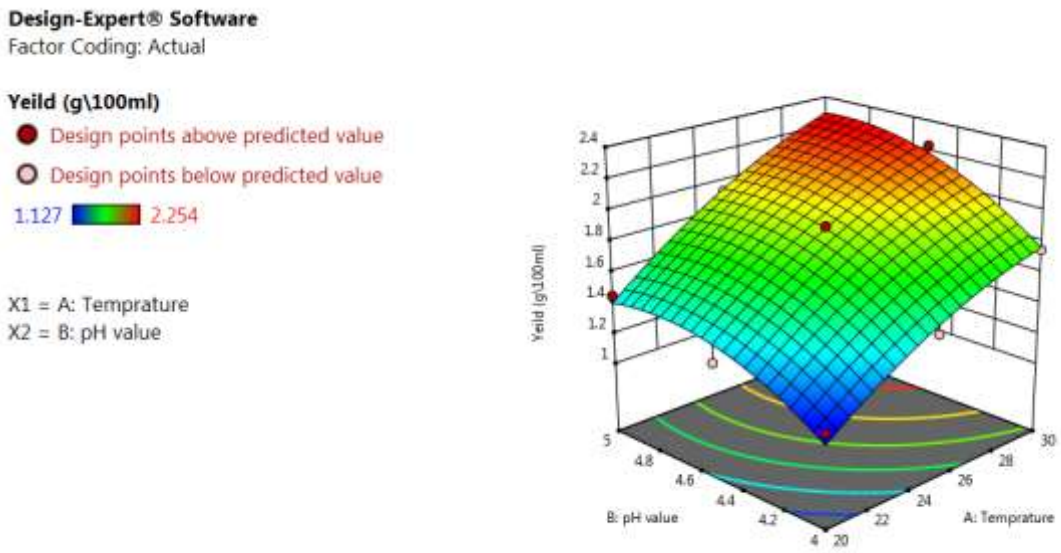
تم تقييم كفاءة النموذج بوساطة معامل التحديد R^2 وهذا مبين في الجدول(6):

الجدول(6): تحليل التباين (ANOVA) لثوابت الانحدار في نموذج كثيرة الحدود من الدرجة الثانية

ثوابت الانحراف المعياري	إنتاجية الكتلة الحيوية للخميرة
المتوسط ± الانحراف المعياري	**0.0644 ± 1.77**
معامل التحديد R^2	**0.9796**
معامل الاختلاف %C.V	**3.64**
التذبذب Adeq precision	**28.1531**

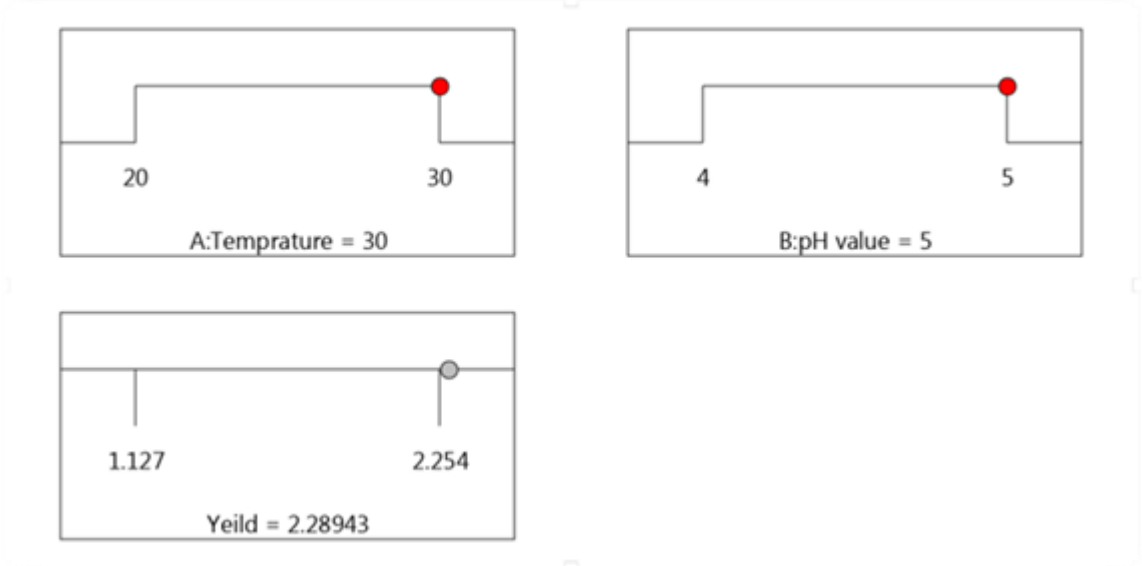
يشير معامل التحديد إلى النسبة المئوية لتباين الاستجابة الذي ينسب إلى النموذج وليس إلى التأثيرات العشوائية. أي تشير قيمته إلى أن العاملين المدروسين (درجة الحرارة، درجة الpH) مسؤولة عن 97.96 % من مقدار التغير في غلة الكتلة الحيوية، في حين أن القيمة المتبقية 2.04 % والتي تمثل التغير في عامل الاستجابة أي إنتاجية الكتلة الحيوية الذي لا يمكن تفسيره من خلال هذا النموذج أي العوامل المدروسة، ويشير معامل الاختلاف (C.V) إلى مقدار تشتت البيانات. وقد ظهر بأن معامل الاختلاف لإنتاجية الكتلة الحيوية(C.V) كان ضمن الحدّ المقبول والذي لا يجب أن يتجاوز 20%.

أجري بعد ذلك اختبار الأمثلة (Response optimizer) وظهرت النتيجة في الشكل (1) حيث يُلاحَظ من الشكل أن الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية من وسط عصير الجزر هي درجة الحرارة 30 ودرجة الpH = 5 ، هذه الظروف تحفز التكاثر الجنسي لخلايا الخميرة وبالتالي زيادة سريعة في عدد الخلايا، وبلغت قيمة المردود عند هذه الظروف 22.54 غ/ل.



الشكل(1): تأثير درجة الحرارة ودرجة الـpH في إنتاجية الكتلة الحيوية من وسط عصير الجزر

إن القيم التجريبية كانت مقبولة وقريبة جداً من القيم المتوقعة مما يعزز صلاحية وكفاءة النموذج، وأظهرت الدراسة شروط الإنتاج المثالية للكتلة الحيوية وهي رقم pH=5، ودرجة حرارة=30 م° كما هو موضح في الشكل(2)، وقد تم إنتاج الكتلة الحيوية تحت الشروط المثالية المتوقعة وكانت الإنتاجية 2.258غ/100مل وسط نمو، في حين كانت القيمة المتوقعة للإنتاجية 2.29غ/100مل وسط نمو، حيث دلّ تقارب النتائج التجريبية مع القيم النظرية على أن النموذج المستخدم ملائم للدراسة.



الشكل(2): الشروط المثلى المحددة لإنتاج خميرة الخباز في وسط عصير الجزر

5-3- نتائج تأثير وسط النمو في قوة التخمير:

الجدول(7): تأثير وسط النمو(عصير الجزر) في قوة تخمير دقيق الخبز

وسط النمو	حجم Co_2 الناتج (cm^3)			كمية Co_2 في الساعات الثلاثة
	الساعة الأولى	الساعة الثانية	الساعة الثالثة	
عصير الجزر	725	1050	1125	2900

وبحسب المواصفة تكون عملية التخمير ممتازة في حال كان حجم Co_2 الناتج عن مجموع الساعات الثلاث مساوٍ 2700 (cm^3)، وهذا دليل على حيوية خلايا الخميرة.

بناءً على مقارنة هذه النتائج مع ما توصل إليه الباحثون يُلاحظ تفوُّق عصير الجزر على المولاس كوسط لإنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز.

ففي دراسة للباحثين (حناوي وصادق، 2010) لإنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخبّاز بالطريقة نصف المستمرة على وسط المولاس عند بريكس 5.57 مع إضافة بعض المغذيات (مستخلص المالت، فيتامين البيروديكسينB6 والبيوتين B7) كان أعلى مردود للكتلة الحيوية (5.23 غ/ل).

كما وجد الباحثون(الأكشر وآخرون، 2015) أن الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز من المولاس هي درجة الحرارة 30 °م، وpH 4.5 وسرعة دوران 200 دورة/ دقيقة، وبلغت قيمة المردود عند هذه الظروف 0.1672 غ/100مل.

ويعود المردود العالي من الكتلة الحيوية على وسط عصير الجزر لغناه بالفيتامينات وخاصة فيتامين التيامين(B1) إذ لاحظ (Acourene *et al*.,2007) إن إضافة فيتامين الثيامين بتركيز 0.6 ملغ/ليتر يحسن إنتاجية الكتلة الحيوية بمعدل يزيد عن 6 %.

كما يحتوي عصير الجزر على فيتامين الريبوفلافين(B2) وفيتامين النياسين(B3) وبعض المعادن كالحديد والفوسفور والبوتاسيوم الضرورية التي تنشط عملية الاصطناع الحيوي وتزيد من الفعالية الإنزيمية للخميرة الناتجة وتقلل الزمن اللازم لإنتاجها إلى 16-18ساعة بدلاً من 24 ساعة في الطريقة التقليدية، إضافة لطزاجة عصير الجزر وعدم احتوائه على مواد مثبطة أو معيقة لنمو الخلايا.

وإن استخدام عصير الجزر كوسط إضافي للمولاس يقلل من المواد المغذية المضافة إلى وسط التغذية كحمض الفوسفور والفيتامينات كالبيوتين والثيامين وبانتوثينات الكالسيوم، وأملاح بعض المعادن كالحديد والنحاس وغيرها)، وبالتالي تخفيض تكاليف المواد المستخدمة في تغذية الخميرة. (وقد لوحظ ذلك باستخدام خلائط من عصير الجزر والمولاس بنسب مختلفة في بحث الماجستير وهذا المقال جزء منه).

الاستنتاجات:

– عصير الجزر وسط ملائم لإعطاء مردود عالٍ من الكتلة الحيوية لخميرة الخبّاز.

– درجة الحرارة المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية هي30 درجة مئوية.

– درجة الpH المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية هي5 .

التوصيات:

– استخدام عصير الجزر كوسط نمو للخميرة .

– ضبط العوامل المناسبة لنمو الخميرة من درجة حرارة ودرجة الpH وسرعة الدوران.

المراجع:

الأكشر، بيان وعبد الوهاب مرعي وصباح يازجي(2015). أمثلة ظروف إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز باستخدام بيئة مستخلص التمور والمولاس، رسالة ماجستير، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

المواصفة القياسية السورية رقم 143 (2016). قوة التخمر. وزارة الصناعة– هيئة المواصفات والمقاييس العربيّة السوريّة.

حناوي، روعة وشريف صادق.(2010). دراسة تأثير بعض المكونات الحيوية في نمو خميرة الخبّاز بالطريقة نصف المستمرة، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، مجلة الأنبار للعلوم الزراعية. المجلد(8) العدد(4).

صادق، شريف.(2005). الأحياء الدقيقة الصناعية. مديرية الكتب والمطبوعات، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، جامعة البعث. 119-123.

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

Ali, M.; N. Outili; A. Kaki; R. Cherfia; S. Benhassine; A. Benaissa and N.CHAOUCHE (2017). Optimization of Baker's Yeast Production on Date Extract Using Response Surface Methodology (RSM).J Foods. 6, 64-81.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. (2005) Official methods of analysis. 18th ed. Washington, USA.

Arshad, K.; R. Khalilm and S. Rajoka (2008). Optimization of process variables for minimization of byproduct formation during fermentation of blackstrap molasses to ethanol at industrial scale. Lett Appl Microbiol. 47(5): 410-414.

Bekatorou, A.; C. Psarianos and A. Koutinas (2006). Production of food grade yeasts. Food Technol.Biotechnol. 44(3): 407-415.

Dubois, M.; K. Gilles; J. Hamilton; A. Rebers and F.Smith (1956). Colorimetric method for determination of sugars and relatedSubstances. Anal Chem. 28, 350-356.

Fadel, M.; S. Yousif; A. Abdelfattah; S. Ola and E. Sarra (2020). Approach for Highly Active Baker`s Yeast Product from Distilled Yeast Biomass. Current Science International. 9(2): 321-334.

Khomich, LM.; IB. Perova and KI. Eller (2020). Carrot juice nutritional profile. Vopr Pitan, Russian. 89(1): 86-95.

Kocher, S. and S. Uppal (2013). Fermentation variables for the fermentation of glucose and xylose using Saccharomyces cerevisiae Y-2034 and Pachysolan tannophilus Y-2460. J. Biotechnol. 12, 531-536.

Palla, M.; M. Blandino; A. Grassi; D. Giordano; C. Sgherri; M. Quartacci; A. Reyneri; M. Agnolucci and M. Giovannetti (2020). Characterization and selection of functional yeast strains during sourdough fermentation of different cereal wholegrain flours. Sci Rep.10, pp15.

Perez- torrado, R.; E. Gamero; R. Gomez- pastor; R. Garre; A. Aranda and E. Matallana (2015). Yeast biomass, an optimised product with myriad applications in the food industry. Trends in Food Science & Technology. 46, 167-175.

Querol, A. and G.H. Fleet (2006). Yeasts in Food and Beverages, 2nd.ed., Springer, Germany. Pp 453.

Rai, B (2010). Essentials of Industrial Microbiology. England, Wiley & sons Ltd, 426.

Ramos-Andr´es, M.; B. Aguilera-Torre and J. García-Serna (2021). Biorefinery of discarded carrot juice to produce carotenoids and fermentation products. Journal of Cleaner Production. 323, 129-139.

Reji, M. and R. Kumar (2022). Response surface methodology (RSM): An overview to analyze multivariate data. Indian Journal of Microbiology Research. 9(4): 241–248.

Saranraj, P.; P. Sivasakthivelan and K. Suganthi (2017). Baker's Yeast: Historical Development, Genetic Characteristics, Biochemistry, Fermentation and Downstream Processing. Journal of Academia and Industrial Research (JAIR), Biology, Chemistry, Environmental Science. 6(7): 111-119.

Sawsan, M.; A. Ali; D. Ayhem and Z. Wissam (2021). Optimization of baker`s yeast production on grape juice using response surface methodology.APTEFF. 52, 89-110.

Sharma, K.D.; S. Karki; N. Thakur and S. Attri (2012). Chemical composition, functional properties and processing of carrot. J Food Sci Technol. 49(1): 22–32.

Stewart, G (2014). Saccharomyces cerevisiae, Encyclopedia of Food Microbiology, Elsevier Ltd. 3: 309-315.

Optimization of baker`s yeast production (*Saccharomyces cerevisiae*) on carrot juice using response surface methodology

Mohammad Naddaf [(1)],Nisreen Naksho [(2)] and Amany younes[*(1)]

(1). Department of Food Science, Faculty of Agriculture Engineering, Tishreen University, Lattakia, Syria.

(2). National Commission for Biotechnology, Faculty of Agriculture Engineering, Damascus University, Syria.

(*Corresponding author: Amany Younes, amanyyounes996@gmail.com).

Received: 19/02/2024 Accepted: 26/06/2024

Abstract

This research was carried out in the laboratories of the National Commission for Biotechnology at the University of Damascus during the period 2022-2023. The purpose of this research was to find the optimal fermentation conditions to produce the highest possible yield of biomass from *Saccharomyces cerevisiae* using carrot juice as the sole carbon source. The Response Surface Methodology (RSM) method was used to determine the best conditions to get the highest yield, where the biomass of the yeast has reached (22.54 g/L) after 24 hours of fermentation, in the following optimal conditions (temperature 30 ^{0}C), pH (5), at a rotation speed of 200 rpm during the fermentation process. According to the Syrian standard, the fermentation power of the resulting biomass was excellent, as the volume of CO2 produced reached 2900 (cm^3).

Key Words: baker`s yeast (Saccharomyces cerevisiae), Biomass, Carrot juice, Temperature, pH.