نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد ۱۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۳، ص. ۸-۱

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 10, No. 1, Spring 2014, p. 1-8

بررسی و مقایسه جایگزینی ملاس توسط خرما، کشمش و آب پنیر در تولید مخمر نانوایی (*S. cerevisiae*)

پرنیان پزشکی[۱]- عبدالمجید مسکوکی[۲*]- محمدالهی[۳]- سید علی مرتضوی[٤]

تاریخ دریافت:۱۳۸۹/۱۰/۵
تاریخ پذیرش:۱۳۹۱/۵/۲۶

چکیده

مخمر نانوایی یکی از محصولاتی است که جهت بهبود کیفیت نان به کار می رود و یکی از مناسب ترین منابع برای تولید مخمر نانوایی، ملاس است. امروزه با توجه به گسترش صنایع تخمیری و محدودیت منابع قندی مناسب، امکان استفاده از دیگر منابع کربوهیدراتی و ضایعات کشاورزی یا صنایع تبدیلی وابسته مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق، بررسی امکان تولید مخمر نانوایی را در سه محیط قندی خرما، کشمش و آب پنیر هیدرولیز شده توسط آنزیم بتاگالاکتوزیداز و همچنین ملاس به عنوان کنترل مورد مطالعه قرار گرفت . میزان بیومس تولیدی، قند مصرفی، میزان فعالیت مخمر بر اساس درصد افزایش حجم خمیر و پارامترهای سینتیکی رشد مخمر در تمام محیط های کشت اندازه گیری شد. در این تحقیق تمام تیمارها با میزان قند کل ۷٪ مورد استفاده قرار گرفت. جهت غنی سازی محیط های کشت از عصاره مخمر و پپتون به ترتیب به مقدار ۳/۵ و ۷٪ استفاده شد.فرآیند تخمیر در طی ۱۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد با مقدار دور۱۵۰ در دقیقه انجام گرفت.میزان هوادهی برابر ۲ V.V.M بود. نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین میزان تولید بیومس با مقادیر ۹۳/۳۳ و ۸۱/۵۳ گرم در لیتر به ترتیب مربوط به محیط های خرما و آب پنیر بود و این در حالیست که مقدار قند مصرفی جز در آب پنیر که در سطح کمتری قرار داشت در دیگر محیط ها دارای تفاوت معنا داری در سطح ۵٪ نبودند. بالاترین میزان ضریب بازدهی محصول نیز با مقدار ۰/۳۵ در محیط حاوی خرما مشاهده شد در حالیکه مخمر رشد یافته در آب پنیر با میزان ۰/۳۲ کمترین ضریب بازدهی را به خود اختصاص داد. همچنین مخمر کشت یافته در کشمش با افزایش حجم خمیر به میزان ۹۶/۱٪ حجم اولیه بیشترین فعالیت را از نظر تولید گاز CO_2 به خود اختصاص داد.

واژه‌های کلیدی: مخمر نانوایی، ملاس، خرما، کشمش، آب پنیر

مقدمه

مخمر نانوایی[۵] یکی از محصولاتی است که جهت بهبود کیفیت نان به کار می رود و مهمترین واکنش بیولوژیکی آن تخمیر قند و تولید الکل و گاز دی اکسید کربن است (Peppler & Reed, 1973). استفاده از مخمر نانوایی در تولید نان دارای فوایدی از جمله افزایش حجم خمیر به واسطه تولید گاز دی اکسید کربن، بهبود ساختار و ترکیب خمیر به وسیله اثر کشسانی حاصل از انبساط خمیر در نتیجه گاز تولید شده , بهبود عطر و طعم نان در اثر تولید آلدهیدها و اسیدهای آلی تولید شده توسط مخمر در حین تخمیر و بهبود خواص تغذیه ای نان است چراکه مخمر حاوی ۲- ۲/۵ درصد پروتئین است و همچنین آنزیم فیتاز موجود در آن قادر به هیدرولیز اسید فایتیک[۶] مضر در خمیر است (Spencer, 1989).

یکی از مناسب ترین منابع برای تولید مخمر نانوایی، ملاس است که به عنوان پساب نهایی و محصول جانبی حاصل از تولید قند از چغندر و نیشکر شناخته می شود (Olbrich, 2006). ملاس در مناطقی که سطح زیر کشت چغندر قند و نیشکر بالاست به عنوان ارزان ترین و معمول ترین منبع قندی برای صنایع تخمیری بشمار می آید و این در حالیست که در دیگر مناطق هزینه حمل و نقل و هزینه کارگری به قیمت ملاس اضافه شده و آن را به منبعی گران

۱، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی دکتری، استادیار و استاد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲- دانشیار گروه فرآوری موادغذایی پژوهشکده علوم وصنایع غذایی
(*- نویسنده مسئول: (Email: a.maskooki@yahoo.com

5 - *Saccharomyces cerevisiae*

6 - Phytic acid

قیمت تبدیل می کند (Ferrari *et al.*, 2001). از طرفی به دلیل استفاده گسترده از ملاس در دیگر صنایع از جمله صنعت الکل کشی و محدود بودن منابع اولیه ،استفاده از جایگزینی که ارزان تر و قابل دسترس در منطقه باشد، می تواند در جهت ارتقاء رقابت صنعتی بکار گرفته شود (Alemzadeh & Vosoughi, 2007). ضایعات کشاورزی از جمله منابع غنی کربوهیدراتی هستند که چنانچه از آنها در جهت صحیح استفاده شود می توان این مواد دور ریز را به موادی با ارزش تبدیل کرد که در صنایع تخمیری از جمله تولید مخمر نانوایی به کار رود و جایگزین مناسبی از نظر قیمت و دسترسی به آن نسبت به ملاس باشد. اما باید توجه داشت که اگر چه کربوهیدرات ها یا قند ها ازجمله فراوانترین ماده آلی روی کره زمین به عنوان منبع کربن می باشند امّا محدودیت های استفاده از آنها به عنوان سوبسترای خمیرمایه عبارتند از :

اشکال مختلف کربوهیدراتها (منوساکاریدها،الیگوودی ساکاریدها،پلی ساکاریدها و قندهای دیگر) و ضرورت تبدیل آنها به قند قابل استفاده برای مخمر، صرفه اقتصادی جریان تبدیل و تولید قند قابل مصرف مخمر ،محدودیت های جمع آوری و دسترسی به منابع، وجود عوامل بازدارنده رشد و تولید خمیر مایه (Spencer,1989). بنابراین بررسی جامع منابع کربوهیدراتی که دارای کمترین محدودیت استفاده از آنها را داشته باشد، حائز اهمیت است.

کشمش: کشمش فرآورده حاصل از خشک کردن انگور است که به روش های مختلف انگور را خشک کرده و پس از تصفیه و تمیز کردن بسته بندی شده و به صورت خشکبار مصرف می شود. . قند موجود در کشمش عمدتاً فروکتوز و گلوکزاست و حدود ۷۰ درصد ماده خشک را تشکیل می دهد .کشمش قابلیت تبدیل مستقیم به قند مایع را دارد و از آنجا که تقریبا کلیه قندهای موجود در آن قابل استفاده برای مخمر است، نسبت به سایر مواد نیاز به آماده سازی کمتری دارد. تولید سالانه کشمش در ایران حدود ۱۵۰۰۰۰ تن برآورد می شود که حدود ۳۰ درصد آن به عنوان ضایعات دور ریخته می شود یا به مصرف دام می رسد (Maskooki, 2007).

خرما: خرما یکی دیگر از منابع غنی قندی محسوب می شود که حدود ۶۶ درصد کربوهیدرات، ۳ درصد پروتئین، ۱۲ درصد فیبر، ۱۵ درصد رطوبت، ۲ درصد موادمعدنی و مقادیر ناچیزی ویتامین و ترکیبات دیگر دارد. تولید خرما در ایران حدود ۹۸۹ هزار تن است که رقمی بالغ بر ۴۰۰ هزار تن آن ضایع شده و یا به عنوان علوفه به مصرف دام می‌رسد. بنابراین با توجه به حجم عظیم میزان ضایعات و قابلیت دسترسی آسان به خرما به عنوان منبع غنی قندی می توان از آن به عنوان جایگزین ملاس برای تولید خمیر مایه استفاده کرد (Alemzadeh&Vosoughi, 2007).

آب پنیر: آب پنیر پساب حاصل از کارخانه های پنیر سازی و یکی از مهم ترین منابع تأمین مواد اولیه ارزان قیمت به عنوان منبع کربن برای رشد و تکثیر خمیر مایه می باشد (Champagne *et al*,1990). در پرمیئت (آب پنیر حاصل از تولید پنیر به روش اولترافیلتراسیون) حدود۴/۵ درصد لاکتوز، ۰/۸ درصد پروتئین، ۰/۰۶ درصد چربی، کمتراز ۱ درصد مواد معدنی و مقادیر ناچیزی ترکیبات دیگر نظیر ویتامین ها وجود دارد. بطور معمول مخمر *s.cerevisiae* به دلیل نداشتن آنزیم لاکتاز قادر به متابولیزه کردن قند لاکتوز موجود در آب پنیر نمی باشد و به همین خاطر برای استفاده ازآب پنیر به عنوان منبع کربن ابتدا بایستی لاکتوز را توسط اسید یا آنزیم β – گالاکتوزیداز هیدرولیز و تبدیل به گلوکز و گالاکتوز نموده و بعداً مخمر را روی آن کشت داد (Ghaley & Sing, 1989).

در این تحقیق هدف بررسی امکان جایگزینی سه نوع از ضایعات کشاورزی و صنعتی شامل ضایعات کشمش، ضایعات خرما و آب پنیر در مقایسه با ملاس برای تولید مخمر نانوایی و تعیین پارامترهای سینتیکی رشد، میزان راندمان تولید مخمر وفعالیت مخمر تولیدی از نظر تولید گاز دی اکسید کربن می باشد.

مواد و روش ها

مواد

ضایعات کشمش از شهرستان کاشمر، ضایعات خرما از میدان میوه و تره بار مشهد، آب پنیر از کارخانه فرآورده های لبنی پگاه خراسان و ملاس از کارخانه قند آبکوه و شیرین مشهد تهیه گردید.

جهت غنی سازی محیط های کشت از عصاره مخمر[1] و پپتون[2] ساخت شرکت شارلو (Scharlau) اسپانیا و برای اندازه گیری قند از معرف انترون و اسید سولفوریک ساخت شرکت مرک (Merck) آلمان استفاده گردید.

میکروارگانیسم

سوش خالص *s.cerevisiae* با نام تجاری BOB 521 به صورت محیط Slant از کارخانه خمیر مایه رضوی تهیه شد که هر گرم مخمر خشک حاوی ۲×۱۰^{۱۰} سلول مخمر در میلی لیتر است.

آنزیم

آنزیم بتا گالاکتوزیداز[3] حاصل از کلایورومایسس فراجیلیس[4] از

1-Yeast Extract
2- Pepton
3- β-Galactosidase
4 - *Kluyveromyces fragilis*

شرکت SIGMA-ALDRICH خریداری شد.

روش ها

هر دونمونه کشمش و خرما ابتدا کاملاً شسته شده و به ترتیب پس از دم گیری و هسته گیری و در نهایت جدا نمودن ناخالصی هایی از جمله سنگ و شن و کاه به نسبت ۱:۵ حجمی/ وزنی با آب مقطر با دمای ۸۰-۸۵ درجه سانتیگراد در همزن کاملاً مخلوط شده و به وسیله صافی پارچه ای،صاف شد. سپس pH شربت ها بین ۰/۵± ۴/۵ تنظیم شده و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد استریل گردید (Acourene *et al.*, 2007).

آب پنیر پرمیئت (آب پنیر حاصل از تولید پنیر به روش اولترافیلتراسیون) پس ازانعقاد پروتیئن ها توسط گرما، جداسازی و صاف کردن با استفاده از کاغذ واتمن و به منظور شکستن قند لاکتوز موجود در آن توسط آنزیم *β-Galactosidase* هیدرولیز گردید. برای این منظور ۹ میلی لیتر محلول بافر-آنزیم به ۱ لیتر آب پنیر پرمئیت با pH= ۷/۸ در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد افزوده شد. پس از تکمیل هیدرولیز و تنظیم pH آب پنیربین ۴/۵-۵ در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه استریل گردید (Matioli *et al.*, 2003)

تهیه محلول بافر-آنزیم

برای تهیه بافر فسفات، ۹/۲۰۸ گرم مونو سدیم دی هیدروژن فسفات (Merck) و ۹/۴۷۰ گرم دی سدیم مونو هیدروژن فسفات (Merck) هر کدام جداگانه با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسانده شدند و سپس به نسبت ۲/۳ با هم مخلوط شدند.در نهایت به ازای هر ۵۰۰ میلی لیتر بافر فسفات، ۲/۳ گرم نمک کلرید سدیم خشک NaCl به محلول اضافه شد (Khadkhodaee & Povey,2008). با توجه به فعالیت آنزیم مورد استفاده که برابر units/mg ۵ بود، برای تهیه محلول بافر- فسفات ۱۰ میلی گرم آنزیم به ازای هر ۱۰۰ میلی لیتر بافر استفاده شد.

آماده سازی محیط های کشت و تخمیر

هر یک از محیط های کشت حاوی سوبسترا با میزان قند کل ۷۰ گرم در لیتر بود که با عصاره مخمر و پپتون به ترتیب به مقدار ۳/۵ و ۷ درصد محیط کشت، غنی سازی شدند (Bekatorou *et al.*, 2006; Bach & Wang, 2005) . محیط کشت slant با محلول سرم فیزیولوژی استریل (محلول ۹/۹گرم در لیتر NaCl در آب مقطر) تا رسیدن به مقدار ۲۵ گرم در لیتر مخمر رقیق سازی شد (Bhushan & Joshi, 2006). پس از انتقال محیط های کشت به ارلن با حجم ۵۰۰ میلی لیتر، تلقیح مخمر صورت گرفت. ارلن ها در بن ماری مجهز به همزن در دمای۳۰ درجه سانتیگراد با ۱۵۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۲ ساعت قرار داده شدند. به منظور تخمیر هوازی مخمر، هوادهی توسط اکسیژن به میزان ۲ V.V.M انجام شد (Acourene *et al.*, 2007; Aransiola *et al.*, 2006).

نمونه برداری

به منظور بررسی کنترل رشد مخمر و میزان مصرف قند، هر ۲ ساعت یک بار ۵ میلی لیتر از محیط کشت نمونه برداری شد (Bhushan& Joshi,2006) .

اندازه گیری مقدار توده سلولی

به منظور تعیین میزان بیومس تولیدی، نمونه ها در ۳۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند.سپس مایع فوقانی رسوب حاصل به منظور اندازه گیری قند جدا شده و بیومس توسط محلول سرم فیزیولوژی دو بار شسته شده و سانتریفوژ گردید.برای تعیین میزان بیومس از روش دانسیته نوری[1] استفاده شد و کدورت سوسپانسیون بیومس در طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (UA-160,SHIMADZU) اندازه گیری شد (Ejiofor *et al.*, 1996; Bekatorou *et al.*, 2006). وزن خشک مخمر نیز با قرار دادن نمونه های سانتریفوژ شده در آون ۸۰ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت تا رسیدن به وزن ثابت تعیین گردید (Ejiofor *et al*,1996).

اندازه گیری میزان قند بر حسب گلوکز

قند موجود در نمونه ها به روش انترون[2] اندازه گیری شد. در این روش مایع فوقانی رسوب جدا شده از نمونه ها پس از مخلوط شدن با محلول ۰/۲ ٪ معرف انترون در اسید سولفوریک غلیظ به نسبت ۱ به ۲ به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری جوشان قرار گرفت. جذب نمونه ها در طول موج ۶۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد (Ghalambar, 2003).

اندازه گیری میزان فعالیت مخمر از نظر تولید گاز CO_2 و قابلیت ورآمدن خمیر

۱ گرم خمیر مایه تر حاصل از تخمیر در ۵۰ میلی لیتر آب مقطر ۴۰ با دمای درجه سانتیگراد حل شد. پس از حدود ۵ دقیقه سوسپانسیون فوق به ۱۰۰ گرم آرد ستاره که از قبل با ۲۰ میلی لیتر آب نمک ۴/۵ ٪ مخلوط شده بود، اضافه گردید. خمیر حاصل پس از ورز دیدن به شکل گلوله درآمده و در استوانه مدرج با دهانه گشاد قرار گرفت.به منظور جلوگیری از خروج گاز CO_2 سطح خمیر به

1- Optical Density (OD)
2- Anthron

طور کامل با روغن پارافین پوشانده شد.سپس استوانه در اینکوباتور ۳۰ درجه به مدت ۲ ساعت قرار گرفت. تفاضل ارتفاع خمیر قبل و بعد از اینکوباتورگذاری بیانگر میزان ورآمدن خمیر و قدرت مخمر در تولید گاز است (استاندارد ملی ایران، شماره ۲۵۷۷).

$$\text{قابلیت ورآمدن خمیر} = \frac{100 \times (A2 - A1)}{A1} \quad (۱)$$

(درصد وزنی)

A_1= حجم اولیه خمیر

A_2=حجم اولیه خمیر

تعیین پارامترهای سینتیکی

ضریب رشد ویژه[1] (μ) از فرمول مقابل محاسبه گردید:

$$Ln\ (X/X_0) = \mu t$$

که در آن X_0 و X به ترتیب میزان بیومس در لحظه صفر و لحظه t است (Ferrari *et al*,2001).

ضریب بازدهی محصول[2] (Y^X_S) از فرمول ذیل به دست آمد (مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۱):

$$Y = \frac{\text{میزان بیومس تولیدی (گرم)}}{\text{میزان قند مصرفی (گرم)}} \quad (۲)$$

آنالیز آماری

در این مطالعه از طرح فاکتوریل کاملا تصادفی استفاده گردید. بر اساس انجام آنالیز واریانس اولیه مشخص گردید اثر متقابل بین تیمارها و فواصل زمانی معنی‌دار نمی‌باشد ($P\leq0.05$)؛ بنابراین کلیه تیمارها به طور یکجا تحت آنالیز آماری قرار گرفتند. به منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون مقایسه میانگین LSD[3] استفاده گردید و آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها توسط نرم افزار MSTATC انجام گرفت. نتایج حاصل در جدول ۱ آورده شده است. همچنین برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده گردید.

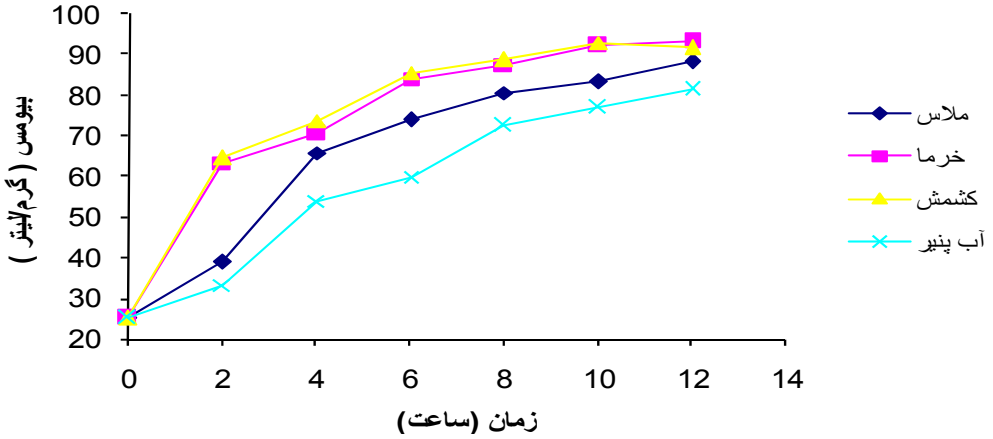
نتایج و بحث

تولید بیومس: با توجه به منحنی های رشد مخمر نانوایی در طول ۱۲ ساعت، فاز تأخیری[4] رشد در مخمر رشد یافته در محیط های حاوی خرما و کشمش مشاهده نشد و مخمر رشد یافته در محیط آب پنیر در ساعات ۴-۶ وارد فاز دیاکسی[5] شده و پس از آن با شیب ملایم تری وارد فاز رشد شد (شکل ۱) چرا که استفاده از قند گلوکز به آسانی توسط مخمر صورت می گیرد اما قند گالاکتوز توسط مخمر زمانی مصرف می شود که قندگلوکز کاهش یابد، و جهت استفاده از گالاکتوز باید آنزیم های لازم را ساخته و خود را برای شرایط جدید آداپته کند (مرتضوی و همکاران، ۱۳۸۱). مقایسه میزان تولید بیومس در انتهای فرایند نشان داد که بیشترین و کمترین میزان تولید بیومس به ترتیب مربوط به خرما و آب پنیر به میزان ۹۳/۳۳(g/l) و ۸۱/۵۳ (g/l) بود (شکل ۲). Ferrari و همکاران (۲۰۰۱) سعی در تولید مخمر نانوایی بر روی مخلوط ملاس و آب پنیر کردند. آنها با افزودن آنزیم بتاگالاکتوزیداز، قند لاکتوز موجود در آب پنیر را به قند قابل مصرف برای مخمر تبدیل کرده و با نسبت های مختلف با ملاس مخلوط کردند. آنها دریافتند که با جایگزین کردن حداکثر ۴۶ درصد از ملاس با آب پنیر می توان توده سلولی با کیفیت مشابه مخمر تولیدی توسط ملاس به دست آورد با این تفاوت که میزان توده سلولی ۶ درصد کمتر خواهد بود. Alemzadeh &Vosoughi (۲۰۰۷) تحقیقاتی بر روی شیره خرما به عنوان بستر تخمیر برای تولید مخمر نانوایی انجام دادند. نتایج مطالعات آنها نشان داد که تقریباً از هر ۳ کیلوگرم ضایعات خرما، ۱ کیلوگرم مخمر حاصل می شود و با مقایسه مقدار حداکثر بازده با مخمر تولید شده بر روی ملاس , هر دو تقریباً به یک اندازه حداکثر مخمر را تولید کردند (Alemzadeh & Vosoughi, 2007).

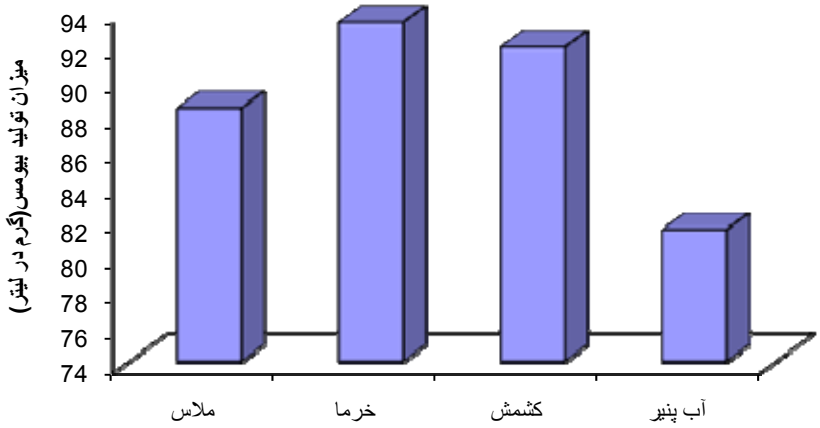
میزان قند مصرفی: با توجه به نمودار میزان قند مصرف شده توسط مخمر در ساعات رشد، مخمر در تمام محیط های رشد در ۲ ساعت اول با سرعت بیشتری قند را مصرف کرده و پس از آن با سرعت کمتری قند را مصرف کرد (شکل ۳). مقایسه میانگین در سطح ۵٪ نشان داد که مقدار قند مصرفی در انتهای فرآیند در محیط های خرما، ملاس و کشمش دارای تفاوت معنی داری نبوده و این در حالی بود که این مقادیر با قند مصرفی در آب پنیر تفاوت معنی داری از خود نشان دادند که احتمال می رود این تفاوت به دلیل عدم هیدرولیز کامل قند لاکتوز موجود در آب پنیر باشد (جدول۱).

فعالیت مخمر از نظر تولید گاز CO_2: شکل ۴ نشان می دهد که بیشترین میزان فعالیت مربوط به مخمر رشد یافته در محیط حاوی کشمش به میزان ۹۶/۱ درصد حجم اولیه خمیر و کمترین میزان فعالیت در مخمر موجود در آب پنیر به مقدار ۸۷/۶ درصد حجم اولیه خمیر است.

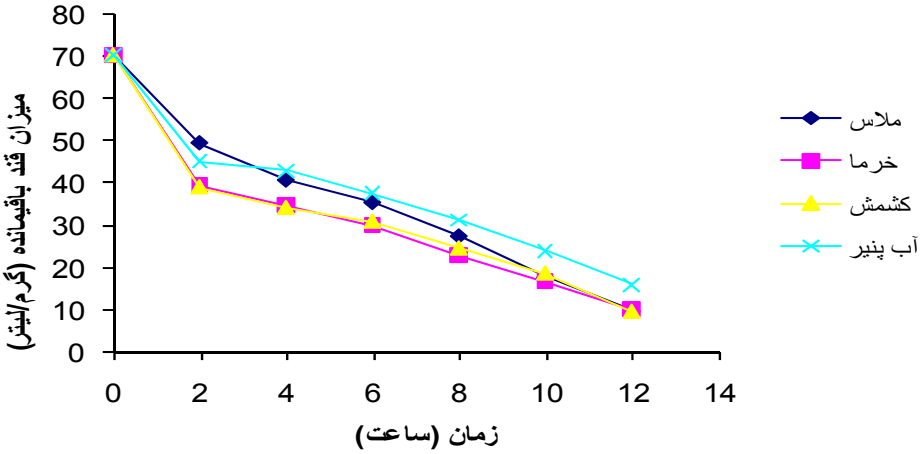
1- Specific growth rate
2- Biomass yield coefficent
3- Least Significant Difference (LSD) Test
4- Lag phase
5- Diauxy



شکل ۱ – منحنی رشد مخمر نانوایی در طی تخمیردر سوبستراهای مورد آزمون



شکل ۲- مقایسه میزان بیومس تولیدی در انتهای فرایند تخمیر در سوبستراهای مورد آزمون



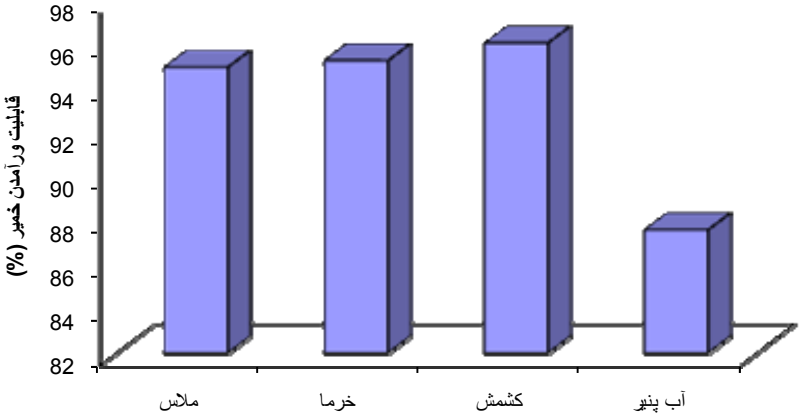
شکل ۳ – روند مصرف قند در سوبستراهای مورد آزمون توسط مخمر نانوایی در طی تخمیر

Ejiofor و همکاران (۱۹۹۶) بر روی کیفیت نانوایی مخمر تولید شده بر روی هیدرولیت نشاسته کاساوا مطالعاتی انجام دادند. آنها با استفاده از حرارت و آنزیم نشاسته کاساوا را هیدرولیز کرده و سپس با رشد مخمر به مدت ۲۸ ساعت پارامترهای سینتیک رشد آن را

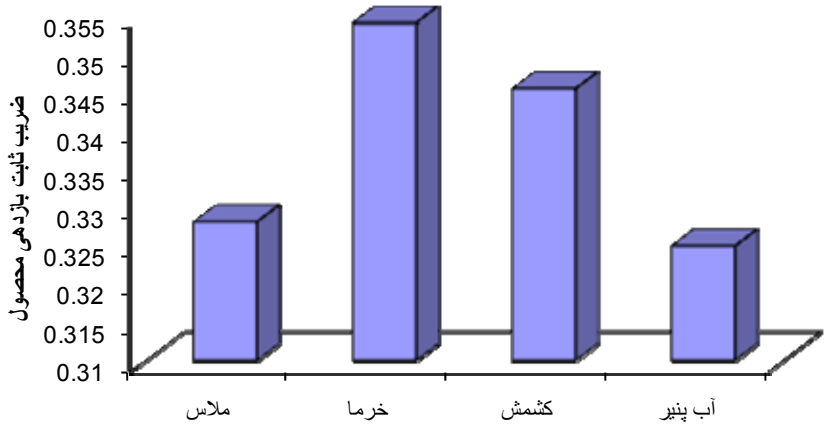
بررسی کردند. آنها دریافتند که تفاوت معنی داری بین توانایی تولید گاز توسط مخمر رشد یافته بر روی نشاسته کاساوا و مخمر تجاری وجود ندارد و هیدرولیت نشاسته ضایعات کاساوا میتواند جایگزین کم هزینه و مناسبی برای گلوکز در تولید مخمر نانوایی با کیفیت مطلوب باشد. در مطالعه انجام شده توسط Ejiofor و همکاران (۱۹۹۶) که در بخش فعالیت مخمر به آن اشاره شده است، میزان فعالیت مخمر به صورت عددی گزارش نشده است و تنها نمودار روند تولید دی اکسید کربن در طی زمان در نمونه شاهد و تیمار گزارش شده است. لذا عدد دقیقی جهت مقایسه در دسترس نبود و صرفاً عدم اختلاف بین فعالیت مخمر در نمونه ها گزارش شده بود.

پارامترهای سینتیکی رشد: مقایسه میانگین مقادیر ضریب بازدهی محصول در محیط های مورد آزمون نشان داد که میزان y در تمام سطوح جز ملاس و آب پنیر دارای تفاوت معنادار هستند (جدول۱) که بیشینه و کمینه میزان این ضریب با مقادیر ۰/۳۵ و۰/۳۲ به ترتیب مربوط به محیط های خرما و آب پنیر بود (شکل ۵)، همچنین مقادیر ضریب رشد ویژه به جز محیط آب پنیر که با میزان h^{-1} ۰/۰۹ کمترین مقدار را به خود اختصاص داد، در سطح ۵٪ تفاوت معنا داری از خود نشان ندادند(جدول۱) .Aransiola و همکاران (۲۰۰۶) تولید مخمر نانوایی را بر روی نشاسته کاساوا هیدرولیز شده تحت شرایط غیر پیوسته مورد مطالعه قرار دادند. آنها به سه روش اسیدی، اسیدی-آنزیمی و آنزیمی-آنزیمی نشاسته استخراج شده از کاساوا را هیدرولیز کردند که بیشترین و کمترین میزان دکستروز به ترتیب در روش های آنزیم-آنزیم و اسیدی حاصل شد. سپس از آنها به عنوان محیط کشت در تخمیر هوازی مخمر نانوایی به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. نتایج به دست آمده نشان داد که بالاترین ضریب ثابت بازدهی مربوط به نشاسته هیدرولیز شده اسیدی $g\ g^{-1}$ ۰/۴۷۲ و کمترین آن مربوط به نشاسته هیدرولیز شده اسیدی- آنزیمی $g\ g^{-1}$ ۰/۴۶۲ است (Aransiola *et al.*, 2006).

Bhushan و Joshi (۲۰۰۶) تولید مخمر نانوایی را بر روی عصاره سیب بررسی کردند و با استفاده از تخمیر غیر مداوم هوازی به سرعت رشد ویژه h^{-1} ۰/۲۴ و ضریب ثابت بازدهی g/g ۰/۴۸ دست یافتند. آنها توانستند حدود ۹۶٪ توده سلولی مخمر تولید کنند که از نظر کیفیت تفاوت معناداری با نمونه تجاری نداشت (Bhushan&Joshi, 2006).



شکل ٤ – مقایسه درصد افزایش حجم خمیر توسط مخمر نانوایی رشد یافته در سوبستراهای مورد آزمون



شکل ٥ – مقایسه ضریب ثابت بازدهی تولید مخمر در سوبستراهای مورد آزمون

Acourene و همکاران (۲۰۰۷) تولید مخمر نانوایی را بر روی شیره خرما بررسی کردند.آنها کینتیک رشد چهار گونه از مخمر *s.cerevisiae* را بر روی شیره دو نوع از خرماهای بومی منطقه بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که ضایعات خرما می تواند به عنوان سوبسترای کم هزینه جهت تولید مخمر نانوایی جایگزین شود. Champagne (۱۹۹۰) رشد ساکارومایسز سرویسیا را بر روی آب پنیر هیدرولیز شده توسط آنزیم مورد مطالعه قرار داد.وی از محلول خیسانده ذرت (CSL) و سولفات آمونیوم به عنوان منابع نیتروژن جهت رشد مخمر استفاده کرد. او آزمایشات خود را در pH های مختلف انجام داد. نتیجه مطالعات وی رشد مطلوب مخمر نانوایی بر روی آب پنیر هیدرولیز شده با استفاده از محلول خیسانده ذرت به عنوان منبع نیتروژن در pH=۵-۶ بود. Haddadin (۲۰۰۹) تولید مخمر نانوایی را بر روی مخلوط آب پنیر و هیدرولیت نشاسته مورد مطالعه قرار داد. وی سه گونه محلی از ساکارومایسز سرویسیا را به همراه یک گونه از کلایورومایسز مارکسیانوس[1] بر روی محیط های مذکور کشت داد. در کشت مخلوط این دو میکروارگانیسم، در ابتدا کلایورومایسز رشد کرده و قند لاکتوز را توسط آنزیم های درون سلولی خود هیدرولیز می کند و سپس مخمر با استفاده از گلوکز تولیدی در ادامه تکثیر می یابد. Spingo و همکاران (۲۰۰۲) پس از امکان جایگزینی شربت گلوکز تولید شده از نشاسته ذرت را با ملاس جهت تولید مخمر نانوایی و استفاده از محلول خیسانده ذرت (CSL) به عنوان منبع نیتروژن و ویتامین را بررسی کردند.به منظور دستیابی به این هدف، آنها نسبت های مختلف شربت گلوکز را با ملاس مخلوط کرده و میزان تولید توده سلولی، ضریب ثابت بازدهی و میزان پروتئین مخمر را اندازه گیری کردند. آنها دریافتند با جایگزینی ۶۰ درصد ملاس با شربت گلوکز تنها به میزان کمی در مقدار پروتئین توده سلولی کاهش خواهیم داشت.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج گزارش شده در این طرح، میتوان چنین نتیجه گرفت که علاوه بر ملاس دیگر جایگزین های قندی از جمله خرما و کشمش نیز می توانند به عنوان سوبسترای تولید مخمر نانوایی به کار روند. بررسی های این تحقیق نشان داد که چنانچه ملاس با خرما یا کشمش جایگزین شود، راندمان تولید بیومس و همچنین فعالیت مخمر در تولید گاز CO_2 و قابلیت ورآمدن خمیر به طور چشمگیری افزایش خواهد یافت و میتواند هزینه های تولید را کاهش دهد.

قدردانی

این مقاله بخشی از نتایج تحقیقاتی است که با مشارکت مالی و فنی شرکت خمیرمایه رضوی و پژوهشکده علوم و صنایع غذایی خراسان رضوی انجام شده است. بدین وسیله از همکاری های بی شائبه آقای مهندس محمد استادی مدیر عامل محترم شرکت خمیرمایه رضوی وهمکاران ایشان و نیز ریاست پژوهشکده و همکاران ایشان در گروه صنایع غذایی و به ویژه سرکار خانم مهندس غیور و جوادی کارشناس وتکنسین محترم آزمایشگاه میکروبیولوژی و صنایع غذایی صمیمانه قدردانی می گردد.

جدول ۱ – میانگین پارامترهای اندازه گیری شده در انتهای فرایند تخمیر

	ملاس	خرما	کشمش	آب پنیر
میزان قند اولیه (gr/l)	۷۰ ± ۰ [a]	۷۰ ± ۰ [a]	۷۰ ± ۰ [a]	۷۰ ± ۰ [a]
میزان قند مصرفی (gr/l)	۶۰/۴۴±۱/۲۹ [a]	۶۰/۳۰ ±۰/۶۲ [a]	۶۰/۵۴ ± ۰/۶۲ [a]	۵۴/۳۷ ± ۰/۴۶ [a]
مقدار بیومس تولیدی (gr/l)	۸۸/۵۳ ±۳/۱۰ [b]	۹۳/۳۳ ± ۱/۲۲ [a]	۹۱/۹۳ ± ۰/۹۰ [ab]	۸۱/۵۳ ± ۱/۶۳ [a]
ضریب ثابت بازدهی محصول (gr/gr)	۰/۳۳ ± ۰/۰۱ [c]	۰/۳۵ ± ۰/۰۱ [a]	۰/۳۴ ± ۰/۰۱ [b]	۰/۳۲ ± ۰/۰۱ [c]
ضریب رشد ویژه (h^{-1})	۰/۱۰ ± ۰ [a]	۰/۱۱ ± ۰ [a]	۰/۱۱ ± ۰ [a]	۰/۰۹ ± ۰ [b]
قابلیت ورآمدن خمیر (درصد وزنی)	۹۵/۰ ± ۱/۰۳ [b]	۹۵/۳ ± ۰/۴۷ [ab]	۹۶/۱ ± ۰/۴۴ [a]	۸۷/۶ ± ۰/۹۸ [c]

کمیت های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح ۵٪ تفاوت معنی داری نداشتند.حروف نشان دهنده اختلاف بین ستون ها است.

منابع

مرتضوی، س. ع.، کریمی، م.، کدخدایی، ر. و رحیمی یزدی، س.، ۱۳۸۱، بیوتکنولوژی میکروبیولوژی صنعتی (ترجمه). چاپ دوم. انتشارات

1 – *Kluyveromyces marxianus*

دانشگاه فردوسی مشهد.

مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران.، ۱۳۸۶، خمیر مایه نان،ویژگی ها و روش های آزمون، استاندارد ملی ایران شماره ۲۵۷۷

Acourene, S., Khalid, A. Kh., Bacha, A., Tama, M. and Taleb, B., 2007, Optimization of Bakery Yeast Production Cultivated on Musts of Dates. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(10): 964-971.

Alemzadeh, I., and Vosoughi, M., 2002, Date Syrup and Baker's Yeast Production. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 41(1), 128–130.

Aransiola, E. F., Betiku, E., Adetunji, O. A., Solomon, B. O., 2006, Production of Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) from row cassava starch hydrolysates in a bioreactor under batch process. *Biotechnology* 5(1): 98-103.

Bekatorou, A., Psarianos, C., Koutinas, A., 2006. Production of Food Grade Yeasts. *Food Technol. Biotechnol. 44* (3) 407–415.

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

Champagne, C. P., Goulet, J., and Lachance, R. A., 1990, Production of Bakers' Yeast in cheese whey ultrafiltrat. *Appl. Environ. Microb*. 56(2), 425-430.

Ejiofor, A. O., Chisti, Y., and Moo-Young, M., 1996, Culture of *Saccharomyces cerevisiae* on hydrolyzed waste cassava starch for production of baking-quality yeast. *Enzyme and Microbial Technology*. 18: 519-525.

Ferrari, M. D., Bianco, R., Froche, C., and Loperena, M. L., 2001, Baker's yeast production from molasses/cheese whey mixtures. *Biotechol. Lett.* 23: 1-4.

Ghalam bar, M. A.,2003. Experimental Biochemistry. Vol. 1., 17-18.

Ghaley, A. E. and Sing, R.K., 1989, Pollution potential reduction of cheese whey through yeast fermentation . *App. Biochem.& Eng*. Vol. 22,181-202.

Haddadin, J. S., 2009, Production of biomass from whey permeate and starch hydrolysates by *Saccharomyces cerevisiae* and *Kluyveromyces marxianu*s. *Bull. Fac. Agric., Cairo Univ.,*60.

kadkhodaee, R., Povey, M. J., 2008, Ultrasonic inactivation of Bacillus alpha-amylase. I. effect of gas content and emitting face of probe. *Ultrason Sonochem.* 15(2). p 133-42.

Maskooki, A. M., 2007.Raisin production and processing improvement. National project report. Khorasan Res. Inst. for Food Sci. & Tech., Mashhad- Iran.

Matioli, G., Moraes, F. F. D., and Zanin, G. M., 2003, Operational stability and kinetics of lactose hydrolysis by β-Galactosidase from *Kluyveromyces fragilis*. *Acta Scientiarum. Health Sciences. Maringa*. Vol. 25., No. 1., 7-12.

Olbrich, H., 2006, The Molasses. Biotechnologie-Kempe GmbH.

Reed, G., Peppler, H., 1973, Yeast Technology. The AVI publishing company, INC.

Spencer, J. F. T., and Spencer, D. M., 1989, Yeast Technology. The Springer- Verlag Berlin Heidelberg publishing company.

Spigno, G., Fumi, M. D., and De Faveri, D. M., (after 2002). Glucose syrup and corn steep liquor as alternative to molasses substrates for production of baking-quality yeast. Institute of Oenology and Food Engineering – Università Cattolica del Sacro Cuore Via Emilia Parmense, 84 – 29100 Piacenza (Italy)

Wang, N. S., Bach . 2005. submerged fermentation of baker's yeast in shaker flask. Department of Chemical & Biomolecular Engineering - University of Maryland.