مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية . (2016) المجلد (32) . العدد 2 . الصفحات: 9-30

على عصارة الذرة البيضاء السكرية
(*Saccharomyces cerevisiae*) أمثلة إنتاج خميرة الخباز

رحيم أبو الجدايل* وفواز العظمة** وصالح أبو الخير***

الملخَص

هدف البحث إلى دراسة استثمار عصارة الذرة البيضاء السكرية (Sugar Sorghum)، كركيزة أساسية في إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز (*Saccharomyces cerevisiae*)، وكذلك أمثلة شروط إنتاجها (درجة الحموضة وتركيز السكر الأولي وفترة التخمير وتركيز فوسفات الأمونيوم) بطريقة الدفعة الواحدة (Batch) مع استخدام مولاس الشوندر السكري كشاهد للمقارنة. بينت نتائج التحليل الإحصائي تأثير معنوي للعوامل المدروسة (تركيز السكر الأولي ورقم الحموضة وزمن التحضين وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم) على الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة، ووجود تأثير تآزري معنوي ($p \leq 0.01$) للعلاقة بين كمية السكر الأولي وكلٍ من درجة الحموضة ونسبة الآزوت وزمن التخمير في تأثيرها على الكتلة الحيوية، وبينت نتائج الأمثلة أن تركيز السكر الأولي ورقم الحموضة وزمن التحضين وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم المثالية لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة هي 53 غ/ ل، 5، 28 ساعة ودون الحاجة لإضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بالنسبة لعصارة الذرة البيضاء السكرية، و50 غ/ ل، 5، 28 ساعة و 0.5 % بالنسبة للمولاس، على التوالي. وبينت نتائج الدراسة تفوق عصارة الذرة البيضاء السكرية معنوياً على مولاس الشوندر السكري في إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة المدروسة؛حيث أعطت عصارة الذرة 6.9 غ/ل من الخميرة الجافة وشكلت هذه الكمية ضعف الكمية التي أعطاها المولاس3.47غ/ل في الشروط المثلى لكل منهما.أكدت هذه الدراسة على إمكانية استخدام عصارة الذرة البيضاء السكرية كركيزة رديفة أو بديلة لمولاس الشوندر السكري في إنتاج خميرة الخبازذات الأهمية الاقتصادية والصناعية والغذائية.

الكلمات المفتاحية: خميرة الخباز، *S.cerevisiae*، الذرة البيضاء السكرية، الكتلة الحيوية، المولاس.

*طالب دكتوراه.
**أستاذ، قسم علوم الأغذية.
***أستاذ، قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

Optimization of Baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) production using Sugar Sorghum juice

R. Abu-Aljadael*, S. Abou - Kheir and F. Azmeh*****

Abstract

The research aimed to study the possibility of use the juice of sugar sorghum, as alternative substrate to produce Baker's yeast (*S. cerevisiae*), and optimizing the production' conditions (pH, sugar concentration, incubation time and the concentration of di ammonium phosphate)by batch method. Beet molass was used as positive control. Results revealed, significance effect of allstudied parameters (pH, sugar concentration, incubation time and the concentration of di ammonium phosphate) and the coefficient between sugar concentration and each of pH, incubation time and the concentration of di ammonium phosphate on biomass yield. Results of optimization showed that the best pH, sugar concentration, incubation time and the concentration of di ammonium phosphate to obtain the highest biomass yield were 5, 53g/l,28 h and without addition of di ammonium phosphate for Sugar Sorghum juice and 5, 50 g/l, 28 and 0.5 % for Beet Molasses, respectively. Result also showed that sugar sorghum juice gave higher biomass yield (6.7 g/l)than beet molass (3.35 g/l)when studied parameters were adjusted at the optimum levels. This research emphasized the importance of sugar sorghum juice as an alternative substrate instead of beet molass to produce baker's yeast which have economical, artificial and feed values.

Keywords: Baker's yeast, *S. cerevisiae*, Sugar Sorghum, Biomass, Molass.

* *PhD. Student*
** *Professor, Dep. Food Sci.*
*** *Professor, Dep. Plant Protection, Fac. Agric. , Damascus Univ.,*

المقدمة

تعد الخمائر (Yeasts) أحياء دقيقة وحيدة الخلية، من حقيقيات النوى (Eucaryots)، تختلف أشكالها وبنيتها من نوع لأخر، فهي مكورة أو بيضوية تتراوح أبعادها بين 3-10 ميكرومتر قطراً و5-30 ميكرو متر طولاً. تعد خميرة الخباز من أهم أنواع الخمائر لاستخدامها في صناعة الخبيز والأغذية العلاجية والبروتين وحيد الخلية وإنتاج الكحول الطبي (الخفاجي، 2008).

تحتاج الخميرة إلى شروط خاصة تتمثل في توافر مصدر جيد للتهوية والطاقة (السكريات الأحادية والثنائية) وبعض الأملاح المعدنية (كالفوسفات والأمونيوم والمغنزيوم) وبعض العوامل الحيوية الأخرى كالفيتامينات، حيث تسلك خميرة *S. cerevisiae* نمطين من الحياة، حياة لاهوائية تمثل الخميرة خلالها المواد السكرية وتحولها إلى كحول إيثيلي وCo_2 وحياة هوائية تستهلك أثنائها المواد السكرية والأملاح المعدنية الموجودة في الوسط لتنمو وتتكاثر لإنتاج الكتلة الحيوية (الباقوني وزملاؤه، 1997) ويزداد معدل النمو والانقسام بازدياد معدل التهوية حيث يزداد معدل عمليات الأكسدة والاستقلاب واستهلاك مغذيات الوسط مع تثبيط مسار إنتاج الكحول الإيتيلي (Prescott وDunn، 1959). وتتطلب الخمائر كذلك تأمين مجال محدد من درجات الحرارة، حيث تنمو الخمائر ضمن مجال يتراوح بين 10 و40 س° فينخفض معدل النمو بارتفاع درجة الحرارة حتى تموت معظم أنواع الخمائر عند الدرجة 50 س° نتيجةً لتوقف عمليات تصنيع البروتين والأحماض النووية وانخفاض قابلية الانقسام الخلوي، وكذلك ينخفض معدل النمو مع انخفاض الحرارة حتى يتوقف عند الدرجة 10 س°، وتختلف حرارة النمو المثلى باختلاف نوع الخميرة ويشكل المجال من 25 حتى 35 س° المجال الأمثل لنمو خميرة الخباز (Jiru، 2009)، وتتأثر الخمائر أيضاً بدرجة حموضة الوسط، وتعد الخمائر أحياء محبة للحموضة حيث تنمو وتتكاثر ضمن مجال من رقم الحموضة يصل حتى pH = 2.7 (Fleet وHeard، 1993) ويتراوح رقم الحموضة الأمثل لنمو خميرة الخباز بين 4.5 و5.5 وإن انخفاض رقم الحموضة يضفي لوناً غامقاً على الخميرة بسبب ترسب الأحماض والملونات الموجودة في الوسط على الجدار الخلوي للخلايا بحيث يصبح غير قادر على التبادل الأسموزي فيسبب انخفاض معدل النمو، وكذلك عند ارتفاع رقم الحموضة فإن التفاعلات الحيوية تتوقف وتصبح الخلايا غير قادرة على الاستفادة من المواد المغذية (الخياط، 1990).

توجد العديد من الطرائق لإكثار خميرة الخباز، أوضح Peter وزملاؤه (1995) بعض الطرائق الصناعية لإنتاج الخميرة في المخمرات الكبيرة، كطريقة الدفعة الواحدة والطريقة المستمرة والنصف المستمرة، ودرس Hutkins (2006) آلية إنتاج خميرة الخباز بطريقة الدفعة الواحدة بإكثارها على المولاس للحصول على الخميرة الطرية والجافة المستعملة في

صناعة الخبز والمعجنات، واستعمل صادق وحناوي (2010) المولاس (شراب الطبخة الأخيرة الناتج عن تصنيع الشوندر السكري لإنتاج السكروز)، كركيزة لإنتاج خميرة الخباز بالطريقة نصف المستمرة. تعتمد صناعة الخميرة في سورية على مولاس الشوندر السكري فقط، ونظراً لما فرضته الظروف المناخية من قلة الأمطار، خرجت مساحات كبيرة من المناطق المخصصة لزراعة الشوندر، نظراً لاحتياجه الكبير للماء إضافةً إلى أنه من المحاصيل المجهدة للتربة ويتطلب العديد من عمليات الخدمة الزراعية كالتسميد والتعشيب.

مما جعل من الأهمية والضرورة البحث عن نبات سكري رديف غني بالعصارة السكرية ويتحمل ظروف الجفاف وتكاليف زراعته منخفضة ويزرع في أكثر من عروة ليوفر المادة الأولية على مدار العام.

تتميز الذرة البيضاء السكرية (Sugar Sorghum) بالعديد من الصفات الهامة والفريدة منها:

1- الكفاءة العالية في التمثيل لإنتاج كميات كبيرة من الكتلة الحيوية، كونها من النباتات رباعية الكربون، حيث تصل عند بعض الأصناف في مرحلة النضج إلى 85 طن/ هـ (الحاج تركي، 2009).
2- الكفاءة العالية في استخدام الماء 3.2 كغ / م3 وبالتالي احتياج مائي قليل نسبياً (4000 م^3/ هـ خلال موسم النمو) بالمقارنة مع الشوندر السكري (12000 م3/ هـ) مما يجعله متميزاً في التأقلم وتحمل الظروف المناخية المتغيرة وإجهاد الجفاف (Dayakar وزملاؤه، 2004).
3- السوق الخضرية الغنية بالعصارة السكرية (30 ألف لتر/ هكتار) وذات السكريات القابلة للتخمير سكروز وغلوكوز وفركتوز (Reddy، 2005).
4- قصر فترة نمو المحصول 3-4 شهور مقارنةً بالشوندر السكري 5-6 شهور مع إمكانية زراعته في أكثر من عروة في السنة الواحدة.
5- انخفاض تكاليف زراعتها ونجاحها في معظم أنواع الترب (Almodares و Hadi ، 2009).

لذلك تعد الذرة البيضاء السكرية أحد أهم المحاصيل الرديفة لإنتاج السكر والخميرة ذات الأهمية الاقتصادية والصناعية والغذائية في العديد من الدول التي تعتمد على الشوندر السكري وقصب السكر.

هدف هذا البحث إلى دراسة أمثلة شروط إكثار خميرة الخباز *S. cerevisiae* على عصارة سوق الذرة البيضاء السكرية بطريقة الدفعة الواحدة بالمقارنة مع مولاس الشوندر

السكري لتحديد الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة، ودراسة تأثير إضافة بعض المكونات الغذائية في النمو.

مواد وطرائق العمل Material and Methods:

أُجري البحث خلال عامي 2013-2014 حيث زرعت الذرة البيضاء السكرية في مزارع كلية الزراعة بجامعة بدمشق، ونُفذت التجارب المخبرية في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية.

1-دراسة تركيب العصارة السكرية Analyzing of Sugar Juice Components:

حُللت العصارة المدروسة بتقدير نسبة المادة الجافة ونسبة الرطوبة وكذلك تحديد نسبة بعض السكريات (السكروز والغلوكوز والفركتوز باستخدام تقانة الكروماتوغرافيا السائلة عالية الدقة HPLC) وحُددت نسبة النتروجين والبروتين وفق طريقة كلدال Kieledahl Method حسب Jaber وزملائه (2009) ونسبة الرماد وفق طريقة ICUMSA رقم (2000) : GS3/3/4/7/8-1وقدرت نسبة بعض العناصر المعدنية Ca, P, Na, Fe, Mn, Zn, Cu باستخدام جهاز الامتصاص الذري (Kim وزملاؤه، 2006).

2-تحضير وسط المغذي اللازم لنمو الخميرة Substrate Preparation:

حُصدت السوق النباتية لنبات الذرة البيضاء السكرية خلال شهري أب وأيلول من عام 2013 واستخلصت العصارة باستخدام عصارة ميكانيكية ذات أسطوانتين محلية الصنع، وفُلتر العصير الناتج خلال مصفاة للتخلص من بقايا ألياف السلولوز ثم حُفظ العصير الناتج بالتجميد لمنع حدوث نشاط ميكروبي يخفض محتوى العصير من السكريات، وعند الاستخدام فُك التجميد في حمام مائي على حرارة 40 س°، واستخدم مولاس الشوندر السكري الناتج عن شركة سكر الرقة، كشاهد إيجابي، بعد تعديل تركيز السكر ودرجة الحموضة حسب تصميم التجربة.

تمديد العصارة The dilution:

مُددت العصارة بالماء المقطر حتى التركيز المطلوب لكل تجربة، وحُددت كمية الماء الواجب إضافتها استنادًا للعلاقة التالية C1 x V1= C2 xV2، حيث C1 يرمز لتركيز العصارة قبل التمديد وC2 التركيز المطلوب و V1 الحجم قبل التمديد V2 الحجم المطلوب.

ضبط حموضة الوسط pH Adjustment:

عُدلت حموضة العصارة باستخدام حمض كلور الماء وهيدروكسيد الصوديوم حتى الوصول إلى درجة الحموضة المدروسة (4، 5، 6) باستخدام جهاز الـ pH meter من شركة (Mettler Toledo).

تعقيم الوسط Sterilization:

عُقمت العصارة المعدلة بالأتوكلاف عند الدرجة 121 س° مدة 20 دقيقة، وبُردت للدرجة 30 س° ثم لُقحت بالبادئ (الخميرة) في ظروف عقيمة ضمن غرفة العزل الجرثومي.

تقدير السكريات الكلية Total Sugar Measurement:

قدرت السكريات الكلية قبل التخمير وبعده باستخدام طريقة DNSA (Dinitrosalicylic Acid) حسب (Miller ، 1959) مع أخذ قراءة الامتصاص على طول موجة 540 نانو متر بعد رسم منحنٍ قياسي للامتصاصية من سلسلة تخفيفات لمحلول الغلوكوز. حُضر محلول DNSA بحل 10 غ من حمض Dinitrosalicylic و0.5 غ من سلفيت الصوديوم و2 غ من بلورات الفينول و10 غ من هيدروكسيد الصوديوم في 1 لتر ماء مقطر، وكذلك حضر محلول طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم بإذابة 40 غ من الطرطرات في 100 مل ماء مقطر.

الحلمهة Hydrolysis:

أجريت الحلمهة بإضافة 1مل من حمض كلور الماء المركز إلى 5 مل من العصارة ثم سخن المزيج حتى الغليان مدة دقيقة واحدة، وتركت حتى تبرد إلى درجة حرارة الغرفة وعُدلت الحموضة باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم 2.5 ن ثم مددت العصارة حتى (1/50، 1/100)، حيث يكون تركيز السكر البداية وقبل التخمير عالٍ (Sheoran وزملاؤه، 1998).

المنحني القياسي لمحلول الغلوكوز Glucose Standard Curve:

حُضرت تراكيز متدرجة من الغلوكوز كما هو موضح في الجدول (1) وذلك بدءاً من محلول أم بتركيز 1 غ/ ل، وطبقت طريقة DNSA بإضافة 3 مل من المحلول إلى كل أنبوب، ومزجت جيداً على رجاجة الأنابيب Vortex وسخنت حتى الغليان مدة 5 دقائق ليصبح اللون بني محمر، ثم أضيف لها 1 مل من محلول طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم 40 %، ومزجت جيداً ثم نقلت إلى حمام مائي حتى بردت إلى درجة حرارة الغرفة. قيست الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer موديل U-

2900 من شركة HITACHI اليابانية) وعلى طول موجة 540 نانومتر مع استخدام محلول شاهد (Blank)، يحوي جميع المكونات التحليل السابقة عدا الغلوكوز لتصفير الجهاز.

الجدول(1): قيم الامتصاصية لتراكيز الغلوكوز المستخدمة في رسم المنحني القياسي:

تركيز الغلوكوز مغ / مل	الامتصاصية 540 nm	تركيز الغلوكوز مغ /مل	الامتصاصية 540nm
0.0625	0.005	0.15	0.228
0.075	0.0098	0.1625	0.267
0.0875	0.0314	0.175	0.295
0.1	0.0523	0.1875	0.355
0.1125	0.0733	0.2	0.39
0.125	0.1343	0.2125	0.446
0.1375	0.164	0.225	0.462

رُسم المنحني القياسي لقيم الامتصاصية مقابل تركيز الغلوكوز بواقع ثلاثة مكررات لكل تركيز، وقد بلغت أدنى قيمة للامتصاصية 0.005 للتركيز 0.0625 مغ / مل، بينما بلغت أعلى قيمة للامتصاصية 0.462 للتركيز 0.225 مغ / مل. استخدم تحليل التباين ANOVA لدراسة وجود فروق معنوية بين متوسطات قيم الامتصاصية للتراكيز المدروسة على مستوى ثقة 1%، وبينت النتائج وجود فروق معنوية بين متوسطات قيم الامتصاصية حيث كانت قيمة p =0.00 وهي أقل من 0.01، ولاختبار معنوية هذه الفروق أُستخدم طريقة أقل فرق معنوي (LSD) وبينت النتائج وجود فروق معنوية بين متوسطات قيم الامتصاصية للتراكيز المدروسة بمستوى الدلالة 1 % حيث كانت قيمة P-value أو Sig تساوي الصفر.

قيست كمية الغلوكوز في بداية ونهاية التخمر باستخدام المطياف الضوئي وعلى طول موجة 540 nm بالمعادلة التالية y = 3.1044 x -0.2382 ، حيث كان معامل الانحدار معنوي ($P \leq 0.01$)، ومعامل التحديد R^2=0.9822 حيث يُفسر بأن تركيز الغلوكوز مسؤول عن 98% من الامتصاصية الناتجة.

3- البادئ Starter :

استخدمت ثلاث سلالات من خميرة *S. cerevisiae* والمستوردة من قبل المؤسسة العامة للسكر، سلالتان من مصر (E1, E2) وسلالة من إيران (I)، وفحصت مجهرياً لدراسة تلوثها بالخلايا الغريبة وحساب نسبة الخلايا الميتة. ودُرس حيوية هذه السلالات باختبار عدد الوحدات المُشكلة لمستعمرات (Colony Forming Unit).

اختبار الخلايا الميتة: حُضر غشاء من معلق الخميرة على شريحة مجهرية ولون بعد جفافه بأزرق الميثيلين وفحص مجهرياً، حيث تتلون الخلايا الميتة باللون الأزرق، ثم قدرت النسبة المئوية للخلايا الميتة من عدد الخلايا الكلي (Painting و Kirsop، 1990).

تقدير عدد الوحدات المشكلة لمستعمرات (CFU):

حُل 1 غ من الخميرة الجافة في 5 مل ماء مقطر معقم ثم أكمل الحجم إلى 50 مل، وحضرت تخفيفات متسلسلة من المعلق المذكور وزرع 50 ميكرو لتر من كل تخفيف على وسط أغار الخميرة والببتون والغلوكوز (10 غ/ ل مستخلص خميرة و20 غ/ ل ببتون و20 غ/ ل غلوكوز و5 غ/ ل أغار) في أطباق بتري وتم عد المستعمرات المتشكلة في كل طبق بعد 24 ساعة.

نسبة اللقاح:

لقح وسط النمو بـ 1 غ/ ل من البادئ المستخدم وذلك بعد عزل مستعمرة نقية من الخميرة وتنشيطها على بيئة YPD السائلة (الحاوية على 10 غ/ ل مستخلص خميرة و20 غ/ ل غلوكوز و20 غ/ ل ببتون) مدة 24 ساعة، ثم جمعت خلايا الخميرة بالتثفيل على سرعة 5000× g مدة 5 دقائق، وقدرت الرطوبة فيها ليتم حساب الحجم المطلوب من اللقاحة.

4- اختبارات ما بعد التخمير Post Fermentation Tests:

السائل المتخمر Fermented Liquid:

فُصلت الخميرة عن سائل التخمر باستخدام مثقلة من نوع (Biofuge Primimco R, Heraeus) بسرعة دوران 5000×g مدة 5 دقائق، للحصول على الخميرة، ومن ثم غسل الراسب بالماء المقطر وثقل مجدداً وجففت في فرن تجفيف مع رفع الحرارة تدريجياً إلى الدرجة 105 س° مدة ثلاث ساعات للحصول على خميرة جافة، وحُسب وزن الكتلة الحيوية الناتجة في اللتر.

5- تصميم التجربة Experimental Design:

لدراسة الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية والمردود من الخميرة المدروسة ودراسة تأثير كل عامل على حدة ودراسة العوامل المتفاعلة مع بعضها بعضاً، صُممَت التجربة باستخدام برنامج Minitab وتصميم تجربة Respone Surface Methodology (RSM) وقد تم تحليل التباين باستخدام ANOVA وحساب أقل فرق معنوي (LSD)، وتضمنت التجربة 40 اختباراً للعوامل الأربعة المدروسة، ودرس كل عامل عند ثلاثة مستويات -1، 0 ، +1، رقم الحموضة (pH=4 ,5 ,6)، من التخمير (42, 28,14) ساعة، تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0.5 ,0.5 ,1%، تركيز السكر الأولي 25 ,50, 75

غ/ ل، ونفذت التجارب على درجة حرارة 30 س° وحجم عصير 500 مل ولقحت بـ 1غ/ ل من البادئ وحضنت في الهزازة الرحوية على سرعة 250 هزة بالدقيقة.

النتائج والمناقشة Result and Discussion:

1-نتائج تحليل مكونات عصارة الذرة البيضاء السكرية بالمقارنة مع المولاس:

دُرست الخواص الكيميائية لعصارة الذرة، وقورنت مع المولاس المستخدم والناتج عن شركة سكر الرقة والذي تم تحليله من قبل نقشو (2013) وكانت النتائج كما هو موضح في الجدول (2):

الجدول (2) مقارنة بين الخواص الكيميائية لعصارة الذرة البيضاء السكرية والمولاس، للمادة الرطبة.

الخواص الكيميائية	عصارة الذرة البيضاء السكرية بركس = 18 %	المولاس الخام ** بركس= 79.5 %	المولاس بعد تمديده بالماء المقطر إلى درجة بركس 18 %
المادة الصلبة الذائبة (Brix) %	18	79.5	18
السكر الكلي %	16.6	47.4	10.73
الرطوبة %	88	17.5	87.4
الرماد %	1.1	15.1	3.41
الآزوت %	0.44	1.43	0.32
% Ca	0.0067	0.61	0.13
% Na	0.00208	1.8	0.4
% P	0.0129	0.004	0.00001
Fe ppm	1.3	112	11.27
Mn ppm	0.34	7	1.58
Zn ppm	0.21	13	2.94
Cu ppm	0.25	3	0.67

** نتائج مقتبسة من نقشو (2013).

ويلاحظ من مقارنة نتائج التحليل الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية (ذات درجة بركس = 18 %) والمولاس بعد تمديده بالماء المقطر إلى درجة بركس مساوية لدرجة بركس عصارة الذرة السكرية (18%)، احتواء عصارة الذرة البيضاء السكرية على كمية أكبر من السكر 16.6 % والآزوت 0.44 % بالمقارنة مع 10.73 % و0.32 % للمولاس على التوالي، في حين احتوى المولاس على كمية أكبر من الرماد 3.41 % بالمقارنة مع 1.1 % للذرة، وبينت نتائج التحليل الإحصائي بإجراء تحليل التباين ANOVA وجود فروق معنوية بين هذه المتوسطات حيث كانت قيمة p- value تساوي الصفر.

2- نتائج اختبار السلالة المستخدمة كبادئ:

بينت نتائج الفحص المجهري لسلالات البادئ المستوردة نقاوة عالية للسلالة E2 وذلك بخلوها من التلوث بالأنواع الأخرى من الجراثيم وانخفاض نسبة الخلايا الميتة إلى أقل من 2

%، في حين وُجد تلوث بأنواع أخرى (تلوث بكتيري وفطري) في السلالتين E1 و I وارتفاع نسبة الخلايا الميتة إلى 3–4 %، وكذلك بينت النتائج ارتفاع عدد الوحدات المشكلة لمستعمرات 1 * 106 / مل في هذه السلالة مقارنةً بـ 8 * 105 / مل و 2.4 * 105 / مل للسلالتين E1 وI على التوالي، لوحظ أن السلالة الثانية حققت المواصفات المطلوبة حسب المواصفات القياسية السورية، والتي تتطلب بأن لا تزيد نسبة الخلايا الميتة عن 3% وأن لا تزيد نسبة الخلايا الغريبة عن 1%.

3- نتائج دراسة التأثير الخطي والتأثير المربع والتأثير التفاعلي للعوامل المدروسة في الكتلة الجافة والمردود من الخميرة.

نُفذت تجارب المعاملات حسب تصميم RSM، وقدرت لكل معاملة كمية الخميرة الجافة الناتجة وكمية السكر المستهلك والمردود من الكتلة الحيوية الناتجة كما هو مبين في الجدول (3). بينت نتائج التحليل الإحصائي معنوية التأثير الخطي والمربع (وتعني تأثير العوامل المربعة مثل pH*pH على الكتلة الحيوية) والتأثير التفاعلي (وتعني تأثير العوامل المتداخلة على الكتلة الحيوية) للعوامل المدروسة على كمية الخميرة الناتجة والمردود، حيث إن قيمة *P* للتأثير الخطي والتأثير المربع والتأثير التفاعلي للعوامل المدروسة على الوزن الجاف للخميرة الناتجة أقل من 0.01 الجدول (4)، ولوحظ وجود ست علاقات تداخل بين المتغيرات الأربعة (العلاقة بين تركيز السكر الأولي وكل من تركيز فوسفات الأمونيوم وزمن التحضين ودرجة الحموضة والعلاقة بين تركيز فوسفات الأمونيوم وكل من درجة الحموضة وزمن التحضين والعلاقة بين درجة الحموضة وزمن التحضين في التأثير على الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة) الجدول (4)، وإن علاقة كمية السكر الأولي مع كل من درجة الحموضة والآزوت وزمن التخمير معنوية ($p \leq 0.01$) في تأثيرها على الكتلة الحيوية الناتجة، في حين لم يكن هناك تأثير معنوي للتفاعل بين الزمن وكل من الحموضة وتركيز الآزوت، حيث كانت $p = 0.1$ و$p = 0.07$ على التوالي، أما التفاعل بين الآزوت ودرجة الحموضة فكانت معنوية على مستوى الثقة 95%، في حين لم تكن معنوية على مستوى الثقة 99%، حيث إن قيمة $p = 0.02$.

الجدول (3) كمية الخميرة الجافة الناتجة وكمية السكر المستهلك والسكر النهائي والمردود من الكتلة الحيوية.

المتغيرات المدروسة				الذرة البيضاء السكر				المولاس			
السكر الأولي غ/ل	الآزوت	الزمن	pH	الخميرة غ/ل	السكر النهائي %	السكر المستهلك %	المردود %	الخميرة غ/ل	السكر النهائي %	السكر المستهلك %	المردود
75	1	3	6	3.60	3.7	3.8	9.47	1.71	2.4	5.1	3.35
75	0	1	4	1.84	5.3	2.2	8.36	0.36	4	3.5	1.04
75	1	1	6	3.00	5.6	1.9	15.78	1.15	4.3	3.2	3.61
75	0	3	6	3.09	3.5	4	7.72	0.54	2.2	5.3	1.03
25	1	1	6	1.80	1.4	1.1	16.36	0.91	1	1.5	6.00

25	1	3	4	1.78	0.9	1.6	11.12	1.31	0.5	2.0	6.57
75	1	3	4	2.92	4.2	3.3	8.84	1.44	2.9	4.6	3.14
25	0	1	6	1.98	1.2	1.3	15.23	0.25	0.8	1.7	1.51
50	0.5	2	4	5.17	2	3	17.23	1.21	1.1	3.9	3.07
75	0	1	6	2.40	5.4	2.1	11.42	0.36	4.1	3.4	1.07
25	0	3	4	1.86	0.8	1.7	10.94	0.24	0.4	2.1	1.17
25	1	1	4	1.27	1	1.5	8.46	0.73	0.6	1.9	3.85
75	1	2	5	4.93	2.5	5	9.86	2.46	1.2	6.3	3.90
50	0	2	5	**6.70**	0.7	4.3	15.6	1.81	0.2	4.8	3.75
50	0.5	1	5	3.97	2.3	2.7	14.70	2.94	1.6	3.4	8.64
75	0	1	4	1.87	5.6	1.9	9.84	0.36	4.3	3.2	1.14
75	1	1	4	1.62	5.9	1.6	10.12	0.90	4.6	2.9	3.12
75	0	3	4	2.44	3.6	3.9	6.25	0.34	2.3	5.2	0.65
25	1	3	6	2.00	0.6	1.9	10.52	1.92	0.2	2.3	8.34
50	0.5	3	5	4.87	0.2	4.8	10.14	**3.52**	0.2	4.8	7.35
50	0.5	2	6	5.38	1.2	3.8	14.15	3.16	1.0	4	7.92
50	1	2	5	6.52	1	4	16.3	3.11	0.3	4.7	6.62
25	0.5	2	5	4.14	0.2	2.3	18	2.67	0.1	2.4	11.15
75	1	3	6	3.66	3.5	4	9.15	1.53	2.2	5.3	2.88
75	1	3	4	2.95	4	3.5	8.42	1.87	2.7	4.8	3.90
25	0	3	4	1.96	0.7	1.8	10.88	0.24	0.3	2.2	1.09
75	1	1	6	3.06	5.4	2.1	14.57	1.57	4.1	3.4	4.64
75	0	1	4	1.89	5.1	2.4	7.87	0.35	3.8	3.7	0.95
25	1	1	4	1.36	1.1	1.4	9.71	1.15	0.8	1.7	6.77
25	0	3	6	2.22	0.5	2	11.1	0.33	0.2	2.3	1.43
75	0	1	6	2.46	5.6	1.9	12.94	0.37	4.3	3.2	1.16
25	1	1	6	1.87	1	1.5	12.46	1.32	0.5	2	6.60
25	0	1	6	2.04	1.4	1.1	18.54	0.25	1.0	1.5	1.68
75	0	3	6	3.16	3.2	4.3	7.348	0.54	1.9	5.6	0.97
25	1	3	6	2.05	0.6	1.9	10.78	1.93	0.2	2.3	8.40
75	1	1	4	1.68	5.8	1.7	9.88	0.78	4.5	3	2.60
50	0.5	2	6	5.38	1.3	3.7	14.54	3.33	0.4	4.6	7.25
25	0.5	2	5	4.20	0.1	2.4	**17.5**	2.73	0.1	2.4	**11.4**
50	0	2	5	6.68	0.8	4.2	15.90	1.86	0.2	4.8	3.87
50	0.5	3	5	4.91	0.2	4.8	10.22	3.45	0.1	4.9	7.04

الجدول (4) تأثير العوامل المدروسة في كمية الخميرة الناتجة على عصارة الذرة البيضاء السكرية:

P	T	SE Coef	Coef	Term
0.000	14.367-	2.11211	30.3443-	Constant
0.000	15.003	0.16937	2.5411	SC
0.000	5.451-	0.56559	3.0833-	NS
0.000	16.400	0.41129	6.7452	TF
0.000	10.566	0.86704	9.1607	pH
0.000	18.597-	0.01509	0.2805-	SC*SC
0.000	4.214	0.35879	1.5120	NS*NS
0.000	19.325-	0.08499	1.6424-	TF*TF
0.000	10.735-	0.08503	0.9128-	pH*pH
** 0.001	3.624	0.02770	0.1004	SC*NS

**0.000	4.170	0.01392	0.0580	SC*TF
**0.001	3.599	0.01390	0.0500	SC*pH
*0.079	1.838	0.06840	0.1257	NS*TF
0.024	2.414	0.06760	0.1632	NS*pH
0.142	1.517-	0.03419	0.0519-	TF*pH

تمثل الأحرف SC إلى تركيز السكر الأولي، وNS تركيز فوسفات ثنائية الامونيوم، وTF زمن التخمير، والرمز pH درجة الحموضة، ويشير الرمز * إلى معنوية التفاعل على مستوى 0.05 والرمز * * إلى معنوية التفاعل على مستوى0.01.

ويبين الجدول (5) على أن متغيراً واحداً على الأقل من المتغيرات المدروسة (رقم الحموضة، زمن التخمير، تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم، تركيز السكر الأولي) ذو تأثير معنوي في كمية الخميرة الناتجة.

الجدول (5) تحليل التباين لكمية الخميرة الناتجة على عصارة الذرة البيضاء السكرية.

P	F	Adj MS	Seq SS	DF	Source (مصدر التباين)
0.000	236.190	6.717	94.037	14	Regression (الانحدار)
0.000* *	218.670	6.219	9.840	4	Linear (التأثير الخطي)
0.000* *	698.200	19.856	82.867	4	Square (التأثير المربع)
0.000* *	7.790	0.222	1.329	6	Interaction (التأثير التفاعلي)
		0.028	0.683	24	Residual Error (الخطأ المتبقي)
0.003	310.140	0.031	0.682	22	Lack-of-Fit
		0.000	0.000	2	Pure Error (الخطأ الصافي)
			95.146	39	Total

ويوضح الجدول (6) وجود تأثير خطي ومربع معنوي لعامل الزمن على المردود من الكتلة الحيوية، حيث كانت قيمة *P* أقل من 0.01، في حين كانت قيمة *P* للعوامل الأخرى (درجة الحموضة وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم وتركيز السكر) أكبر من 0.05، وبالتالي فإن تأثيرها الخطي والمربع غير معنوي.

أما بالنسبة للتأثير المشترك للمتغيرات المدروسة على المردود من الكتلة الحيوية، يبين الجدول (6) وجود تأثير مشترك معنوي لكلٍ من علاقة التداخل بين الزمن ودرجة الحموضة، حيث أن قيمة p = 0.007، وعلاقة التداخل بين تركيز السكر الأولي والآزوت، على مستوى الدلالة 95 % ، (p =0.02)، في حين لم يكن لبقية علاقات التداخل (الزمن وتركيز السكر الأولي، درجة الحموضة وتركيز السكر الأولي، الزمن وتركيز الآزوت، درجة الحموضة وتركيز الآزوت) تأثير مشترك معنوي على المردود من الخميرة.

الجدول(6) تأثير العوامل المدروسة على المردود من الخميرة الناتجة على عصارة الذرة البيضاء السكرية.

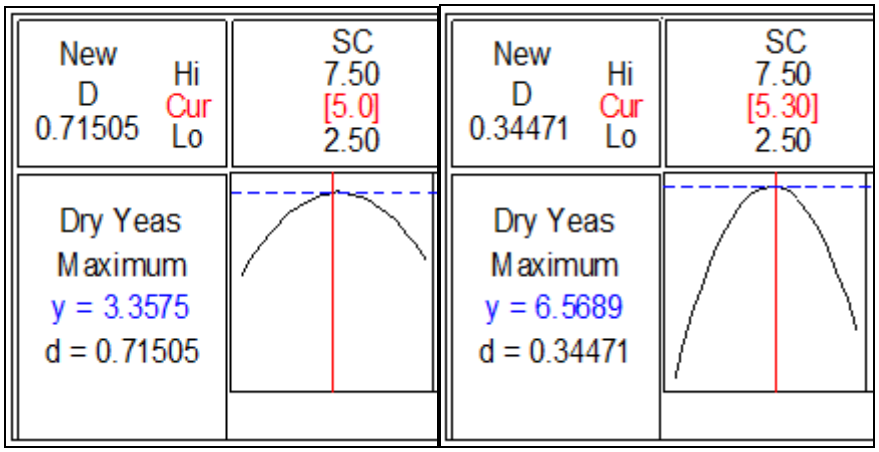
P	T	SE Coef	Coef	Term
0.361	0.932-	20.9118	19.4847-	Constant
0.712	0.374	1.6769	0.6266	SC
0.503	0.680-	5.5999	3.8103-	NS
0.000	4.077	4.0721	16.6009	TF
0.396	0.864	8.5845	7.4163	pH
0.377	0.900-	0.1494	0.1344-	SC*SC
0.566	0.583-	3.5524	2.0693-	NS*NS
0.001	3.813-	0.8414	3.2083-	TF*TF
0.594	0.540-	0.8419	0.4545-	pH*pH
*0.024	2.411	0.2742	0.6611	SC*NS
0.404	0.850-	0.1378	0.1170-	SC*TF
0.922	0.099	0.1376	0.0136	SC*pH
0.373	0.908	0.6772	0.6149	NS*TF
0.716	0.368	0.6693	0.2461	NS*pH
**0.007	2.973-	0.3385	1.0064-	TF*pH

4- دراسة تأثير العوامل المدروسة على وزن الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

4-1- تأثير تركيز السكر الأولي على الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

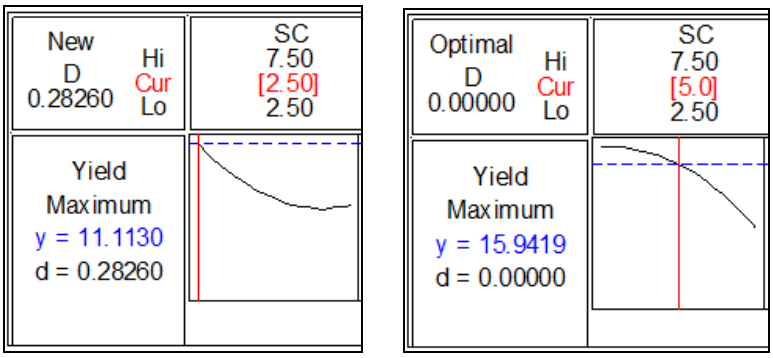
تشير النتائج المبينة في الشكل (1) إلى ازدياد الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة بازدياد التركيز الأولي للسكر في الركيزة حتى53 غ/ ل بالنسبة للذرة و 50 غ/ ل بالنسبة للمولاس، والتي تمثل التراكيز المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة 6.56 غ/ ل و3.35 غ/ ل بالنسبة لركيزتي الذرة والمولاس على التوالي، وذلك عندما تكون العوامل الأخرى عند مستوياتها المثلى (pH=5 وزمن التحضين 28 ساعة ودون إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بالنسبة للذرة، و pH=5 وزمن التحضين 28 ساعة وتركيز فوسفات الأمونيوم 5 .0 % بالنسبة للمولاس)، وإن زيادة تركيز السكر الأولي بعد ذلك رافقه انخفاض تدريجي في الكتلة الحيوية الناتجة. وقد بينت نتائج التحليل الإحصائي معنوية تأثير تركيز السكر الأولي في الكتلة الحيوية الناتجة ($p \leq 0.01$)، وكذلك بالنسبة للمردود من الخميرة، عند احتسابه على أساس كمية السكر الكلي المستهلك، فقد بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بالنسبة لكمية السكر المستهلك، حيث إن تركيز السكر الأولي 50 غ/ ل أعطى أفضل مردود 16% بالنسبة للذرة وذلك عند ضبط العوامل الأخرى المدروسة (pH= 5 وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 5 .0% وزمن تحضين 28 ساعة)، أما بالنسبة للمولاس أعطى التركيز 25 غ/ ل أفضل مردود 11.1 % الشكل(2) وذلك عند ضبط العوامل الأخرى المدروسة (pH= 5 وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 7 .0% وزمن التحضين 32 ساعة)، توافقت هذه النتائج

مع العديد من الدراسات والأبحاث، حيث وجد Inparuban وزملاؤه (2009) أن زيادة تركيز السكر في الوسط إلى50 غ/ ل أعطت أعلى كتلة حية من الخميرة، وكذلك وجد Jiru (2009) في دراسة لأمثلة إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة على مولاس قصب السكر أن معظم سلالات خميرة *S. cerevisiae* المدروسة أعطت أعلى كتلة حيوية عند رقم بركس 8 أي تركيز سكر 50 غ/ ل، في حين تناقص المردود مع الارتفاع في تركيز السكر في الوسط ليكون أقل ما يمكن عند تركيز 75 غ/ل)، وذكر D'Amato وزملاؤه (2006) أن زيادة تركيز السكر الأولي في الوسط من 200غ/ ل إلى300غ/ ل أدى إلى انخفاض الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة، وهذا تطابق مع العديد من الدراسات والأبحاث (Serio وزملاؤه، 2001) ويفسر ذلك بأن استقلاب السكر عند الخميرة يتم إما عبر مسار الأكسدة أو عبر مسار التخمير اللاهوائي، وهذا يعتمد على تركيز السكر في الوسط فالتركيز المرتفع للسكر يثبط أنزيمات التنفس (مسار الأكسدة) أو ما يدعى Crabtree effect وبالتالي تتجه الخميرة نحو مسار تخمير السكر لإنتاج الإيثانول بدلاً من الكتلة الحيوية وذلك بتحويل حمض بيروفيك الناتج عن مسار التحلل السكري إلى استالدهيد والذي بدوره يرجع إلى أيثانول وثاني أكسيد الكربون مع طاقة مختزنة بصورة ATP، حيث تنخفض الكتلة الحيوية ويزداد الإيثانول الناتج، والذي له تأثير سلبي على إنتاج الكتلة الحيوية (Ringbom وزملاؤه، 1996 ؛ Bekatorou وزملاؤه، 2001).



(b) (a)

الشكل (1) تأثير تركيز السكر الأولي في إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة (بالوزن الجاف غ / ل)، على ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).



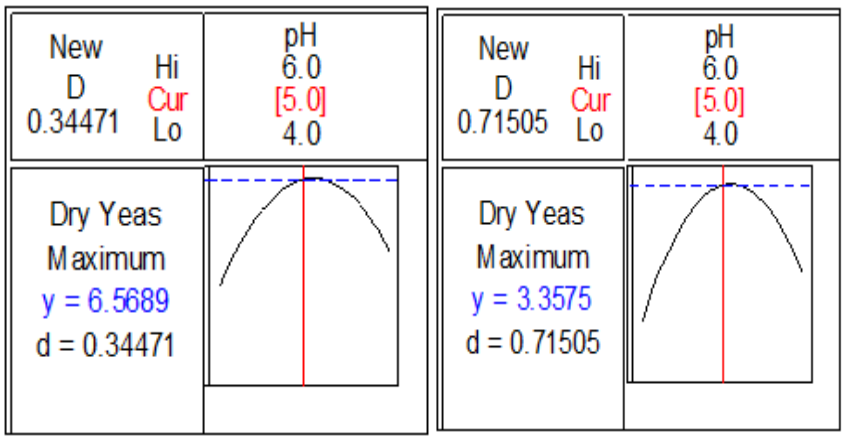
(b) (a)

الشكل (2) تأثير تركيز السكر الأولي في المردود من الكتلة الحيوية، على ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).

4-2- تأثير درجة الحموضة على الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

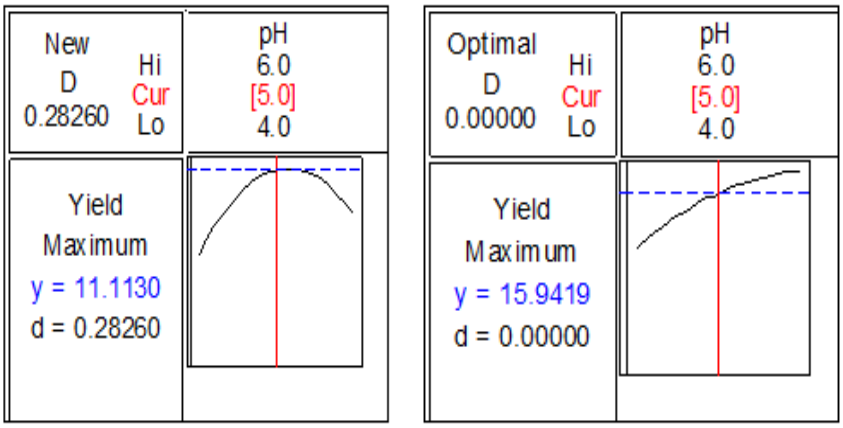
تعد الخمائر كائنات محبة للحموضة (Acidophilic Organism) وهذه خاصية هامة في أثناء الإنتاج الصناعي، حيث تمنع الحموضة المنخفضة لأوساط النمو من حدوث التلوث البكتيري (صادق وحناوي 2010). بينت نتائج التحليل الإحصائي معنوية تأثير حموضة الوسط في الكتلة الحيوية ($p \leq 0.01$)، وتشير النتائج المبينة في الشكل (3) إلى قدرة الخميرة على النمو ضمن المجال المدروس من رقم pH [4-5-6] وهذا يتوافق مع ما وجده Azmuda وزملاؤه (2006) في دراسة لإنتاج خميرة الخباز، حيث كانت الخميرة قادرة على النمو في مدى من قيم pH تراوح بين(3.6 - 6) وخلصت نتائج الدراسة في هذا البحث إلى ازدياد الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة مع ارتفاع درجة حموضة الركيزة من 4 حتى5، ثم انخفضت الكتلة الحيوية الناتجة بارتفاع رقم الحموضة إلى 6، وبالنتيجة مثل رقم الحموضة 5 الحموضة المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية 6.56 غ/ ل و3.35 غ/ ل وذلك بالنسبة لركيزتي الذرة والمولاس، على التوالي، وتطابق هذا مع ما أورده Arroyo-López وزملاؤه (2009) حيث وجد أن رفع رقم الحموضة من 2.24 إلى 4.76 أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة، في حين وجد Yalcin وOzbas (2008) أن رقم الحموضة 4 أعطى أعلى كتلة حيوية جافة للسلالات المدروسة من الخميرة، وبينت نتائج التحليل معنوية العلاقة بين الحموضة وتركيز السكر، في حين لم يكن هناك تأثير معنوي للتفاعل بين درجة الحموضة مع الزمن، وهذا تطابق مع ما أورده Jiru (2009) حيث لم يجد تأثير معنوي للتفاعل بين رقم الحموضة 5 والزمن 24 ,48 ساعة في الكتلة الحيوية الناتجة. تتوقف درجة الحموضة المثلى بالإضافة للعوامل المدروسة، على السلالة المستخدمة وهذا ما توصل إليه العديد من الباحثين حيث وجد Jiru (2009) في دراسة لمقارنة ثلاث سلالات (*teff, tell,*

Commercial Baker's yeast) من حيث ظروف النمو المثلى لإعطاء أعلى إنتاجية على مولاس قصب السكر، أن السلالة التجارية أعطت أعلى كتلة حية 2.97 غ/ ل عند pH = 5 وتطابق هذا مع ما توصلنا إليه في هذه الدراسة، في حين أعطت السلالتان الأخريتان *teff, tell* أعلى كتلة حيوية 2.86 غ/ ل 2.64 غ/ ل عند أرقام الحموضة 4, 4.5 على التوالي. وكذلك بالنسبة للمردود من الخميرة، فيبين الشكل (4) أن درجة الحموضة 5 أعطت أفضل مردود 15.94 و11.1 % بالنسبة للذرة والمولاس على التوالي، وذلك عند ضبط العوامل الأخرى عند مستوياتها المثلى (تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم وزمن تحضين وتركيز السكر الأولي 0.7 % و32 ساعة و25 غ/ ل بالنسبة للمولاس و 0.5 % 28 ساعة و 50غ/ ل بالنسبة للذرة، على التوالي).



(b) (a)

الشكل (3) تأثير الحموضة في إنتاج الكتلة الحيوية (بالوزن الجاف غ / ل)، على ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).



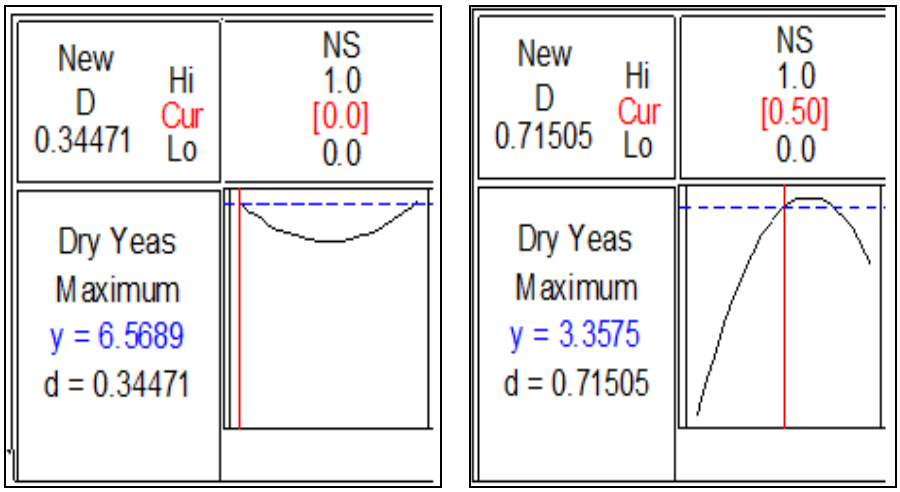
(b) (a)

الشكل (4) تأثير درجة الحموضة في المردود من الكتلة الحيوية للخميرة، على ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).

4-3- تأثير إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم على وزن الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

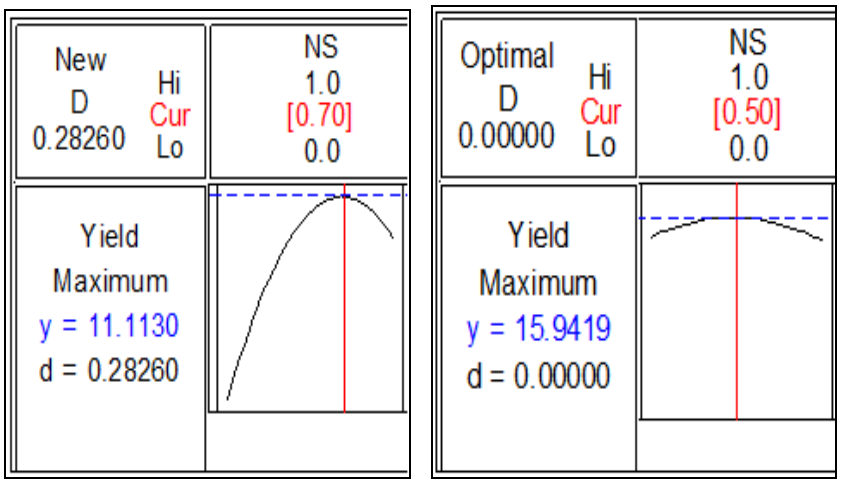
يعد الآزوت عنصراً هاماً في حياة الخميرة، إذ يدخل في تركيب الأحماض الأمينية التي تكون بروتينات البروتوبلاسم، وتشير نتائج التحليل الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية والمولاس عند درجة بركس 18 الجدول(2) إلى ارتفاع الآزوت الكلي 4.4 غ/ ل في عصارة الذرة بالمقارنة مع المولاس 0.79غ/ ل، وبينت نتائج الدراسة أن إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم إلى عصارة الذرة البيضاء السكرية لم تؤد إلى زيادة الكتلة الحيوية الناتجة كما يبين الشكل (5)، لوحظ من الجدول (3) أنه عند التركيزين 0 و1% لفوسفات ثنائية الأمونيوم وعند الشروط الأخرى المثالية (pH = 5) وزمن التحضين 28 ساعة وتركيز السكر الأولي 50 غ/ ل) فإن متوسط وزن الكتلة الحيوية الناتجة كان 6.52 غ/ ل و6.69 غ/ ل، على التوالي، كما أن زيادة تركيز المصدر الآزوتي أدى إلى انخفاض طفيف غير معنوي في الكتلة الحيوية نتيجة ارتفاع الملوحة والضغط الأسموزي للركيزة، حيث انخفضت الكتلة الحيوية في تجربة أخرى عند تركيز 1.5 % إلى 4.22 غ/ ل. أما بالنسبة للمردود على أساس كمية السكر المستهلك يبين الشكل (6) أن أعلى مردود من الكتلة الحيوية الناتجة كان 15.9 % عند الشروط التالية (pH = 5) وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0. 5 % وزمن التحضين 28 ساعة وتركيز السكر الأولي 50 غ/ ل)، ولدى المقارنة مع الشروط المثلى للحصول على أكبر كتلة حيوية لوحظ انخفاض تركيز السكر المثالي بمقدار 3 غ/ ل (من 53 إلى 50 غ/ ل) وازداد تركيز الآزوت المطلوب إضافته بمقدار 0.5 % (من 0 إلى

0.5 %)، وتعد هذه النتيجة جوهرية لدراسة الجدوى الاقتصادية من إضافة مصدر آزوتي للعصارة، وذلك بمقارنة نقص المردود من 15.9 إلى 15.6% مع تكاليف إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.5 %، حيث يبين التحليل الإحصائي أن الفرق في المردود بين الحالتين هو 0.03، أي للحصول على زيادة قدرها فقط 0.03 غ خميرة من 100 غ سكر نحتاج إلى إضافة 5غ فوسفات ثنائية الأمونيوم لكل 2 لتر من العصارة السكرية، و يستنتج من ذلك قلة جدوى إضافة المصدر الآزوتي. أما بالنسبة لمولاس الشوندر يبين الشكل (6) أن إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.5 % أعطى أعلى كتلة حيوية 3.35غ/ ل وإضافته بنسبة 0.7 % أعطت أعلى مردود11.1 %.



(b) (a)

الشكل (5) تأثير تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم في إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة (بالوزن الجاف غ / ل)، على ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).



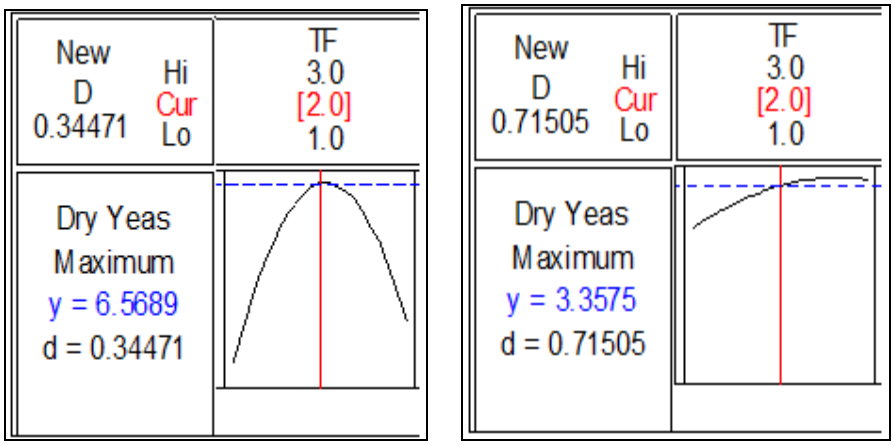
(a) (b)

الشكل (6) تأثير تركيز فوسفات الأمونيوم في المردود من الكتلة الحيوية على ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).

6-4- تأثير زمن التحضين على الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

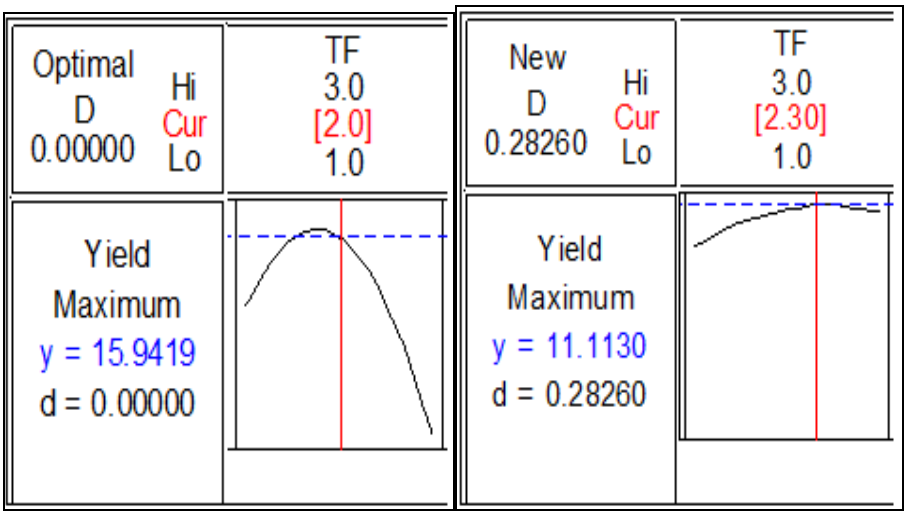
إن مدة التحضين المناسبة هامة للإنتاج الأعظمي للخميرة، حيث تمر الخميرة في أثناء نشاطها بأربعة أطوار، الطور التمهيدي وطور النمو الأسي وطور الثبات وطور التراجع أو الهبوط. بينت نتائج التحليل الإحصائي في هذه الدراسة معنوية تأثير زمن التحضين في الكتلة الحيوية الناتجة (p=0.00)، حيث يشير الشكل (7) إلى ازدياد الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة بازدياد زمن التحضين، حيث كانت الكتلة الحيوية الناتجة بعد 28 ساعة من التحضين 6.56 غ/ ل و3.35 غ/ ل بالنسبة لركيزتي الذرة والمولاس على التوالي، وذلك عند ضبط العوامل الأخرى عند الشروط المثلى لكل ركيزة، وإن استمرار التحضين لم يؤد إلى زيادة الوزن الناتج بل دخلت الخميرة في طور التراجع والتحلل، وكذلك بالنسبة للمردود من الخميرة عند احتسابه على أساس كمية السكر الكلي المستهلك، وبينت نتائج التحليل الإحصائي الشكل (8) وجود فروق معنوية بالنسبة لكمية السكر المستهلك مع الزمن حيث حُصل على أفضل مردود 16 % بعد 28 ساعة من التحضين، أما بالنسبة للمولاس وجد أن إطالة زمن التحضين حولي أربع ساعات إضافية مع ضبط الشروط الأخرى (pH= 5 وتركيز فوسفات الأمونيوم 0.7% وتركيز السكر الأولي25 غ/ ل)، أعطى أفضل مردود 11.1%، وتوافقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي تناولت دراسة ظروف نمو خميرة *S. cerevisiae* على ركائز مختلفة وبطريقة الدفعة الواحدة، حيث وجد Inparuban

وزملاؤه (2009) أن زمن التحضين 30 ساعة أعطى أعلى كتلة حيوية من الخميرة. في حين بينت نتائج التحليل الإحصائي لدراستنا عدم وجود تأثير معنوي للتفاعل بين الزمن وكل من درجة الحموضة وتركيز الآزوت، حيث كانت قيمة p = 0.1 و p = 0.07 على التوالي.



(b) (a)

الشكل (7) تأثير زمن التحضين في إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة (بالوزن الجاف غ / ل)، على ركيزتي الذرة السكرية (a) والمولاس (b)، حيث تمثل القيم3,2,1 فترات التحضين 42,28,14 ساعة على التوالي.



(b) (a)

الشكل (8) تأثير زمن التحضين في المردود على ركيزتي الذرة السكرية (a) والمولاس (b)، حيث تمثل القيم3,2,1 فترات التحضين 42,28,14 ساعة على التوالي.

تطبيق الشروط المثلى المستنتجة:

طبقت الشروط المثلى المستنتجة من التجربة العاملية المصممة بطريقة RSM، لكل من عصارة الذرة البيضاء السكرية (pH = 5 والزمن 28 ساعة وتركيز السكر الأولي 53 غ/ ل) والمولاس (pH=5) وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0. 5 % والزمن 28 ساعة وتركيز سكر 50 غ/ ل)، بحجم عصارة 500 مل ودرجة حرارة تحضين 30 س° ولقحت بالبادئ بنسبة 1غ/ ل وحضنت في الهزازة الرحوية بسرعة 250 هزة بالدقيقة، وكانت النتائج كما في الجدول (7):

الجدول (7) مقارنة الكتلة الحيوية للخميرة من ركيزتي الذرة السكرية والمولاس عند تطبيق الشروط المثلى (متوسط ثلاثة مكررات).

حجم العصارة (مل)	500	
حجم الدورق (لتر)	1	
pH	5	
نوع الركيزة	عصارة الذرة البيضاء السكرية	المولاس
السكر في بداية التجربة غ/ل.	53	50
تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم %	0	0.5
السكر الكلي بعد 28 ساعة غ/ل.	6	4
السكر المستهلك غ/ل	47	46
متوسط الكتلة الحيوية الناتجة جافة غ/ل.	6.9	3.47

أجري التحليل الإحصائي لنتائج هذه التجربة بتحليل التباين ANOVA باستخدام برنامج SPSS 15 لحساب أقل فرق معنوي LSD على مستوى ثقة 1%، للمقارنة بين متوسطات الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة عن المولاس والذرة البيضاء السكرية، وكذلك للمقارنة بين متوسطات الكتلة الحيوية الناتجة عن هذه التجربة مع المتوسطات المتوقعة والناتجة وفق التجربة متعددة العوامل المصممة بطريقة RSM. بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين متوسطات الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة عن الذرة بالمقارنة مع المولاس ($p = 0.00 \leq 0.01$)، حيث أعطت عصارة الذرة كتلة حيوية للخميرة 6.9 غ/ ل تشكل ضعف الكمية التي أعطاها المولاس 3.47 غ/ ل، وكذلك بينت النتائج عدم وجود فروق معنوية ($p = 0.01$) بين متوسطات الكتلة الحيوية الناتجة عن هذه التجربة (6.9 غ/ ل و3.47 غ/ ل لكل من عصارة الذرة والمولاس، على التوالي) والمتوسطات الناتجة وفق تصميم RSM (6.5 غ/ ل و3.3 غ/ل).

الاستنتاجات

1- أكدت هذه الدراسة على إمكانية استخدام عصارة الذرة البيضاء السكرية (Sugar Sorghum) كركيزة بديلة عن مولاس الشوندر السكري لإنتاج خميرة الخباز *S. cereviseae* ذات الأهمية الغذائية والاقتصادية.

2- تفوقت عصارة الذرة البيضاء السكرية معنوياً على مولاس الشوندر في إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز، حيث أعطت عصارة الذرة في الشروط المثلى لها، كتلة حيوية من الخميرة 6.9 غ/ ل شكلت ضعف الكمية التي أعطاها المولاس 3.47 غ/ ل في الشروط المثلى له.

2- بينت نتائج الدراسة معنوية تأثير العوامل المدروسة (تركيز السكر الأولي ورقم الحموضة وزمن التحضين وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم) على كمية الخميرة الجافة الناتجة.

3- بينت نتائج الأمثلة أن تركيز السكر الأولي ورقم الحموضة وزمن التحضين المثالية لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة هي 53 غ/ ل، 5، 28 ساعة بالنسبة لعصارة الذرة البيضاء السكرية و50 غ/ ل، 5، 28 ساعة بالنسبة للمولاس، على التوالي.

4- بينت النتائج التحليل غنى عصارة الذرة البيضاء السكرية بالآزوت القابل للتمثيل، حيث أعطت أعلى كتلة حيوية من الخميرة 6.90 غ/ ل دون الحاجة لإضافة مصدر آزوتي خارجي، في حين يتطلب المولاس إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.5% للحصول على أعلى كمية ممكنة من الخميرة 3.47 غ/ ل

التوصيات

1- إجراء تجارب موسعة تمهيداً لإدخال نبات الذرة البيضاء السكرية في الخطة الزراعية السنوية، كنبات واعد صديق للبيئة ومتحمل لظروف الجفاف ومتعدد الاستعمالات.

2- تطبيق الشروط المثلى المستحصل عليها في هذه الدراسة على المستوى الصناعي، لإنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز بعد إجراء تجارب بحجوم أكبر ودراسة الجدوى الاقتصادية.

3- إجراء تجارب للحصول على خميرة الخباز من خلطات من عصارة الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري.

المراجع العربية

1. لباقوني، محمد رياض؛ ومطانيس سعد. 1997. كيمياء الأغذية (القسم العملي)، منشورات جامعة البعث، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية.

2. الخفاجي، زهرة محمود. 2008. التقنية الحيوية الميكروبية، توجهات جزيئية، معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية، جامعة بغداد.

3. الخياط، غسان حمادة.1990. الصناعات الميكروبيولوجية (الجزء النظري)، منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة.

4. الحاج تركي.2012. التوصيف الشكلي والجزيئي لأصناف مدخلة من الذرة البيضاء السكرية وتحديد التتابعات النكليوتيدية لمورثة تصنيع السكر *SuSy2*، أطروحة ماجستير، جامعة دمشق.

5. صادق، شريف، روعة حناوي.2010. دراسة تأثير بعض المكونات الحيوية في نمو خميرة الخبز بالطريقة نصف المستمرة، مجلة الأنبار للعلوم الزراعية، 8(4): 194−207.
6. نقشو، نسرين. 2013. أمثلة إنتاج الكحول الحيوي من المولاس باستخدام سلالات من خميرة *Sacharomyces* Sp. وبكتيريا *Zymomonas mobilis*، أطروحة دكتوراه، جامعة دمشق

المراجع الأجنبية:

7. Almodares, A; and M. R. Hadi. 2009. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review, *Afr. J. Agric. Res*. 4 (9): 772 - 780.

8. Arroyo-López, F. N; S. Orlić; A. Querol; and E. Barrio. 2009. Effects of temperature, pH and sugar concentration on the growth parameters of *Saccharomyces cerevisiae*, *S. kudriavzevii* and their interspecific hybrid, *INT J FOOD MICROBIOL*. 131:121-127.

9. Azmuda, N; N. Jahan; and A. Khan. 2006. Production and comparison of indigenous and commercial baker`s yeasts, *Bangladesh J. microbiol*. 23(2): 89-92.

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

11. D'Amato, D; R. C. Maria; A. D. N. Matteo; and S. Milena. 2006. Effects of temperature, ammonium and glucose concentrations on yeast growth in a model wine system, *IJFST*. 41(10): 1152-1157.

12. Dayakar, Rao. B; C. V. Ratnavathi; K. Karthikeyan; P. K. Biswas; S. S. Rao; B. S. Vijay Kumar; and N. Seetharama. 2004."Sweet sorghum cane for bio-fuel production: A SWOT analysis in Indian context", National Research Centre for Sorghum, Rajendranagar, Hyderabad, AP 500 030. India. P: 20.

13. Fleet, G. H; and G. M. Heard. 1993. Yeasts-growth during fermentation. *Wine Microbiology and Biotechnology*, Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland. Pp: 42-43.

14. Hutkins, W. R. 2006. Microbiology and Technology of Fermented Foods, www.wiley.com, December 2014.

15. Inparuban, K; S. Vasantharuba; S. Balakumar; and V. Arasaratnam. 2009. Optimization of a culture conditions for Baker's yeast cell mass production – A preliminary study, *JSc – EUSL*. 3(1): 34-45.

16. Jaber, A. M. Y; N. Mehanna; and Sh. Sultan. 2009. Determination of ammonium and organic bound nitrogen by inductively coupled plasma emission spectroscopy. *Talanta*,78 (4-5): 1298-1302.

17. Jiru, T. M. 2009. Evaluation of yeast biomass production using molasses and supplements, Master thesis, Addis Ababa University, Faculty of Science. P:70.

18. Kim, K. J; D. Yoshiharu and A. Hideki. 2006. Effects of residual metal compounds and chain-end structure on thermal degradation of poly (3-hydroxybutyric acid), *Polymer Degradation and Stability*, 1(91):769 − 777.

19. Miller, G. L. 1959. Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugar, *Anal. Chem*, 31(3):426-428.

20. Painting, K; and B. Kirsop. 1990. Quick method for estimating the percentage of viable cells in a yeast population using methylene blue staining, *World J Microbiol Biotechnol*, 6(3):346-7.

21. Peter, F. S; S. Hall; and A. Whitaker. 1995. Principles of Fermentation Technology, University of Hertfordshire, Hatfield, U.K, Second edition. Pp: 357.

22. Prescott, S. C; and C. G. Dunn. 1959. Industrial Microbiology, Third edition, McGraw-Hill, New York, Pp: 831- 945.

23. Reddy, B. V. S; S. Ramesh; P. Sanjana; B. Ramaih; P. M. Salimath; and K. Rajashekar. 2005. Sweet sorghum−A potential alternative raw material for bio-ethanol and bio-energy, *Journal of SAT Agricultural Research*. 1(1):1−8.

24. Ringbom, K; A. Rothberg; and B. Saxen. 1996. Model-based automation of baker's yeast production, *J Biotechnol*. 51(1):73-82.

25. Sheoran, A; B. Yadav; P. Nigam; and D. Singh. 1998. Continuous ethanol production from sugar cane using a column reactor of

immobilized *Saccharomyces cerevisiae HAU-1*, *J.Basic Microbiol*. 38(2):123-128.

26. Serio, M. D; R. Tesser; and E. Santacsaria. 2001. A kinetic and mass transfer model to simulate the growth of baker's yeast in industrial bioreactors, *Chem. Eng. J*. 82(1-3):347-354.

27. Yalcin, S. K; and Z. Yesim Ozbas. 2008. Effects of pH and temperature on growth and glycerol production kinetics of two indigenous wine strains of Saccharomyces cerevisiae from Turkey, *Braz. J. Microbiol*. 39 (2):325-332.

Received	**2015/03/24**	**إيداع البحث**
Accepted for Publ.	**2015/09/08**	**قبول البحث للنشر**