

## بهینه سازی مقادیر قند تری هالوز و پروتئین و تاثیر آن بر قابلیت ورآوری مخمر نانوایی (ساکارومایسی سرویزیه) به روش سطح پاسخ

احسان ا... اژدری<sup>۱</sup>، سید رضا محمود زاده آخرت<sup>۲\*</sup>، جعفر قلی جعفری<sup>۳</sup>،

محسن پرهیزکار<sup>۴</sup>

۱- دکترای مدیریت DBA، شرکت خمیر مایه رضوی

۲- کارشناس ارشد علوم و صنایع غذایی، شرکت خمیر مایه رضوی

۳- کارشناس ارشد مهندسی شیمی، شرکت خمیر مایه رضوی

۴- کارشناس ارشد مهندسی شیمی، شرکت خمیر مایه رضوی

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۱۵)

### چکیده

با توجه به نقش و تاثیر بسزا میزان بهینه مقادیر پروتئین و قند تری هالوز در مخمر نانوایی بر روی مهمترین فاکتور کیفی مخمر نانوایی یا همان قدرت ورآوری آن، لذا در این مطالعه این امر مورد بررسی قرار گرفت.

در این تحقیق، ۵ تیمار مورد مطالعه هریک به شکل یک فرمانتاسیون در یک فرمانتور اسپارژری (Jet Pipe) بدون همزن در مقیاس صنعتی انجام گردیدند و در هر فرمانتاسیون یا تیمار، سطوح و مقادیر متفاوتی از منابع کربنه و منابع ازته بعنوان سوبستراهای فرمانتاسیون مورد استفاده قرار گرفت. این سطوح و مقادیر مختلف توسط روش سطح پاسخ انتخاب گردیدند. در کلیه تیمارها سعی گردید که تمامی متغیرهای مداخله گر و متغیرهای زمینه ایی ثابت بوده تا تاثیری بر روی نتایج حاصله ایجاد نگردد. مخمرهای حاصله از انجام هر فرمانتاسیون از لحاظ فاکتورهای درصد پروتئین و میزان درصد قند تری هالوز و قدرت ورآوری دو ساعته و قدرت ورآوری نیم ساعته مورد آزمون قرار گرفتند. با توجه به آزمونهای انجام گرفته بر روی مخمرهای حاصله از هر تیمار، مقادیر ایتیمم درصد قند تری هالوز و درصد پروتئین و بدنبال آن مقادیر ایتیمم سوبستراهای پایه کربنه و پایه ازته بر اساس ماکزیمم قدرت ورآوری در میان ۵ تیمار بدست آمدند. در پایان مشخص گردید که در میان ۵ تیمار، تیمار شماره ۴ مورد تحقیق با داشتن ماکزیمم قدرت ورآوری دو ساعته به میزان  $150 \text{ ml CO}_2/120 \text{ min}$  و قدرت ورآوری نیم ساعته به میزان  $305 \text{ ml CO}_2/30 \text{ min}$  دارای مقادیر ایتیمم درصد پروتئین به میزان  $49/58$  و درصد قند تری هالوز به میزان  $19/89$  گردید. لذا این تیمار بر اساس مهمترین فاکتور کیفی یعنی قدرت ورآوری در میان ۵ تیمار مورد تحقیق بعنوان تیمار برتر شناخته شد و به تبع فرمولاسیون فرمانتاسیون این تیمار نیز در میان فرمولاسیونهای ۵ تیمار موجود، دارای بهترین فرمولاسیون فرمانتاسیون از لحاظ مقادیر و ضرایب سوبستراهای مصرفی منابع کربنه و منابع ازته گردید.

**کلید واژگان:** مخمر نانوایی، قدرت ورآوری، پروتئین، تری هالوز، روش سطح پاسخ

\*مسئول مکاتبات: mahmoudzadehra@gmail.com

## ۱- مقدمه

مخمرها فارچه‌های تک سلولی هستند [۲] یا [۱]. خمیرمایه نانویی از گونه ای از مخمرها به نام ساکارومایسس سروزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) تولید می شود. خمیرمایه نانویی برای تخمیر و ورآوردن نان در دنیا مصرف می شود و مردم با آن آشنا هستند. مهمترین وظیفه ای که مخمرها در تهیه خمیر بعهده دارند، عمل آوردن محصول و ایجاد گاز CO<sub>2</sub> می باشد [۱-۶].

تری هالوز (TRE HALOSE) نام یک قند دی ساکارید است. این قند در گستره وسیعی از ارگانسیم ها وجود دارد. تری هالوز مهمترین دی ساکارید ذخیره شده درون سلول می باشد که وظایف مهمی را بر عهده دارد. از جمله: حفاظت سلول در برابر کم آبی، فریز کردن، گرما، فشار اسمزی و مواد شیمیایی سمی مانند اتانول، رادیکال های آزاد اکسیژن و فلزات سنگین. در حقیقت تری هالوز از سلول محافظت و در تثبیت پروتئین کمک می کند. عملکرد اصلی تری هالوز به عنوان ذخیره کربوهیدرات نمی باشد. هدف اصلی آن نگه داشتن ساختار سیتوپلاسم تحت شرایط استرسی محیط می باشد [۸ و ۷]. در تولید مخمر نانویی عنصر ازت از ترکیباتی مانند آمونیا، نمکهای آمونیوم (سولفات یا فسفات) ویا اوره جذب می شوند. غلظت نیتروژن در مخمر نانویی در حدود ۹-۶ درصد می باشد [۹ و ۱]. غلظت و میزان نیتروژن مورد نظر بستگی به کیفیتی که انتظار خواهیم داشت دارد یعنی با سطوح پروتئینی بالا معمولا قدرت ورآوری بیشتری خواهیم داشت اما ماندگاری مخمر کمتر خواهد بود که این مورد درارتباط باخمیرمایه تازه و خشک صدق می نماید [۵ و ۶]. یکی از مهمترین فاکتورهای کیفی مخمر نانویی قابلیت تولید گاز یا اکتیویته یا قدرت ورآوری بوده که نقش اصلی را در ور آوردن خمیرمحصولات نانویی بعهده دارد. درمیان فاکتورهای موثر برقابلیت تولید گاز مخمرنانویی دو فاکتور میزان پروتئین و میزان قند تری هالوز مخمر نانویی از اهمیت خاصی برخوردار می باشند [۷]. دراین مقاله سعی شده میزان تاثیر این دو فاکتور برقابلیت تولید گاز مخمر نانویی مورد بررسی قرار گرفته و در نهایت با بدست آمدن مقادیر اپتیمم این دوفاکتور مهم از نتایج آزمونهای تیمارها، بتوان با در نظر داشتن

مقادیر اپتیمم این دو متغیر و با طراحی یک برنامه مناسب فرمانتاسیون به یک مخمر با خصوصیات کیفی مناسب دست یافت. در این تحقیق متغیرهای وابسته، اکتیویته یا همان قدرت ورآوری مخمر نانویی و میزان پروتئین و میزان قند تری هالوز در نظر گرفته میشوند و متغیرهای مستقل، مقادیر سوبستراهای مصرفی پایه کربنه (ملاس) و پایه ازته (محلول اوره) خواهند بود [۴ و ۱].

جهت انجام این تحقیق با توجه به همکاری شرکت خمیرمایه رضوی و استفاده از تجهیزات این شرکت، جهت انجام فرمانتاسیونها از یک فرمانتور خاص این شرکت واز نوع فرمانتور بدون همزن و با سیستم هوادهی از نوع اسپارژری (Jet Pipe) استفاده شده است که تمامی فرمانتاسیونها یا عبارتی تیمارها مشخص شده در این فرمانتور و با ثابت درنظر گرفتن متغیرهای مداخله گر وزمینه ایی اجرا گردیده اند و مخمرهای حاصله از اجرای هر تیمار جداگانه آنالیز گردیده و متغیرهای وابسته آن یعنی درصد پروتئین، درصد قند تری هالوز و قدرت ورآوری (دو ساعته و نیم ساعته) محاسبه گردیده و بر اساس بالاترین میزان قدرت ورآوری بدست آمده درمیان تیمارها بعنوان مهمترین فاکتور کیفی مخمر نانویی، دو فاکتور درصد پروتئین و درصد قند تری هالوز تیمار مربوطه بعنوان اپتیمم مقادیر مذکور و به تبع تیمار مربوطه نیز بعنوان مناسب ترین تیمار انتخاب گردیده است که این تیمار طبیعتاً دارای بهترین شاخصه های کیفی بوده و طراحی یا فرمولاسیون فرمانتاسیون این تیمار نیز در بین تیمارها موجود برتر خواهد شد که درنتیجه بهترین مقادیر مصرفی سوبستراهای منابع کربنه و ازته را به همراه خواهد داشت [۱ و ۷].

## ۲- مواد و روش ها

تمامی تیمارها یا عبارتی دیگر کلیه فرمانتاسیونهای مورد نظر در داخل یک فرمانتور مشخص شده انجام می گیرد و همچنین در تمامی فرمانتاسیونها کلیه متغیرهای مداخله گر ثابت در نظر گرفته می شوند یعنی به جزء متغیرهای مستقل پایه های کربنه و ازته کلیه متغیرهای مداخله گر شامل پایه فسفره، مقدار و نوع مخمر مادر یا ماده اولیه تلقیح، مقدار آبیگری اولیه فرمانتور، ترکیبات

## ۲-۳- نحوه محاسبه تئوریک میزان کربن مورد نیاز جهت هرتیمار برمبنای بیومس مورد پیش

### بینی

براساس یک قانون در فرمانتاسیون تولید مخمر نانواپی به ازای مصرف ۱۰۰ پوند ملاس خام حدود ۲۵ پوند مخمر خشک تولید خواهد شد (ضریب ۴) با توجه به اینکه این اصل در ارتباط با ملاسی با مشخصات بریکس در حدود ۸۵-۸۰ و درصد قند ۵۵-۵۰ بیان شده است و ملاسهای مصرفی در ایران بسیار پایتتر از این دامنه می باشند لذا پنج سطح پایه کربنه جهت تیمار از مبنای ضریب ۴ الی ۴,۴ به کمک روش سطح پاسخ انتخاب و بر اساس این ضرایب، پنج سطح پایه کربنه تعیین گردید [۱]. با توجه به این موارد نحوه محاسبات بدین شکل انجام شد:

$$37500 = \text{lit} \times \text{حجم کاری} \times 0.05 = 37500$$

کیلوگرم خمیر مایه بر مبنای ۱۰۰ درصد ماده خشک

$$3947 = 0.95 \div 37500$$

کیلوگرم خمیر مایه برمبنای ۹۵ درصد ماده خشک

مبنای ۹۵ درصد ماده خشک بر اساس درصد واقعی ماده خشک خمیر مایه حاصله از درایر (خشک کن) می باشد.

محاسبه تئوریک میزان پایه کربنه مورد نیاز جهت تیمار اول:

کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴

$$15788 = 4 \times 3947$$

کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴

محاسبه تئوریک میزان پایه کربنه مورد نیاز جهت تیمار دوم:

کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴/۱

$$3947 \times 4/1 = 16182$$

کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴,۱

محاسبه تئوریک میزان پایه کربنه مورد نیاز جهت تیمار سوم:

کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴/۲

$$3947 \times 4/2 = 16577$$

محاسبه تئوریک میزان پایه کربنه مورد نیاز جهت تیمار چهارم:

کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴/۳

$$3947 \times 4/3 = 16972$$

محاسبه تئوریک میزان پایه کربنه مورد نیاز جهت تیمار پنجم:

کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴/۴

تنظیم کننده PH، دمای فرمانتاسیون، عوامل ضد کف، نوتریتنها، میزان هوادهی و مدت زمان فرمانتاسیون ثابت در نظر گرفته می شوند و با توجه به اینکه همگی تیمارها در یک فرماتور مشخص و با ابزار دقیق خاص خود و توسط اپراتورهای ثابت صورت گرفته اند سعی گردید که تاثیر متغیرهای زمینه ای نیز به حداقل ممکن برسد.

## ۲-۱- آماده سازی فرماتور و مسیرهای انتقال

جهت انجام فرمانتاسیونها از یک فرماتور بدون همزن و با هوادهی از نوع اسپارژری (Jet Pipe) استفاده گردید. قبل از آغاز بکار و شروع فرمانتاسیونها کلیه مسیرهای انتقال و فرماتور، مورد عملیات CIP واقع شدند. عملیات CIP شامل مراحل ذیل می باشند:

۱- آبکشی با آب کلرینه شده.

۲- شستشو با محلول سود ۲ درصد.

۳- آبکشی مجدد با آب کلرینه شده.

۴- شستشو با محلول اسید نیتریک ۱,۵ درصد.

۵- آبکشی مجدد با آب کلرینه شده.

۶- استریل با بخار تادمای ۹۵ درجه سلسیوس .

بعد از اتمام عملیات CIP، فرماتور آماده آغاز بارگیری و شروع فرمانتاسیون می باشد [۱۴].

## ۲-۲- فرمانتاسیون

ظرفیت اسمی فرماتور مورد استفاده ۱۰۰ مترمکعب بوده و ظرفیت کاری (Volume Work) مورد استفاده در کلیه فرمانتاسیونها ۷۵ مترمکعب بود [۱]. بر اساس پیش بینی اینکه DS نهایی (ماده خشک) در انتهای فرمانتاسیون به حدود ۵ درصد خواهد رسید و یا بعبارتی بیومس تولیدی در محلول حاصل از فرمانتاسیون که در این پروسه ورت (Wort) نامیده می شود به ۵ درصد خواهد رسید لذا در پایان فرمانتاسیون میزان بیومس تولیدی قابل پیش بینی خواهد بود [۱] و کلیه محاسبات پایه های کیلوگرم ملاس خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴,۲ و تهیه کربنه وازته یا بعبارتی متغیرهای مستقل و طحرریزی اولیه و تهیه plan و پایه تئوری فرمانتاسیونها یا تیمارها براین مبنا خواهد

انجام گردید [۷] خام مورد نیاز با احتساب ضریب ۴,۳

$$3947 \times \frac{4}{4} = 17366$$

### طرح ریزی پایه ازته جهت تیمارها

با توجه به اینکه در این مطالعه پنج تیمار و عبارتی پنج فرمانتاسیون پیش بینی و انجام خواهد گرفت لذا بر همین مبنا نیز لزوماً پنج سطح پایه ازته و یا به معنی دیگر پنج سطح پروتئین به کمک روش سطح پاسخ تعیین گردیده که هر تیمار شامل یکی از این سطوح خواهد بود و طرح تئوری هر فرمانتاسیون بر مبنای سطح مربوطه پایه ریزی خواهد شد. (جدول ۱)

سطوح ازته و یا پروتئینی مورد پیش بینی از میان سطوح متداول در مخمر نانوائی و براساس روش سطح پاسخ انتخاب گردیدند و این سطوح پروتئینی مورد نظر در دامنه ۴۴ درصد تا ۵۲ درصد بود.

### ۲-۴- نحوه محاسبه تئوریک میزان ازت مورد نیاز جهت هر تیمار بر مبنای پایه پروتئینی و

#### بیومس مورد پیش بینی

همانطور که در توضیحات بالا ذکر گردید در پایان هر فرمانتاسیون حجم کاری آن در حدود ۷۵ مترمکعب بوده که حاوی ۵ درصد ماده خشک خواهد بود بنابراین با استفاده از داده های روش سطح پاسخ برای تیمار اول با پیش بینی میزان ۴۴ درصد پروتئین مبنای محاسبات میزان پایه ازت به شکل ذیل محاسبه خواهد شد:

$$3750 = \text{حجم کاری lit} \times \frac{0.05}{100}$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۱۰۰ درصد ماده خشک

$$3750 \div \frac{0.95}{100} = 3947$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۹۵ درصد ماده خشک

مبنای ۹۵ درصد ماده خشک بر اساس درصد واقعی ماده خشک خمیرمایه حاصله از درایر می باشد.

$$44 \div \frac{6}{25} = 7.04$$

درصد ازت مخمر حاصله بر مبنای پروتئین ۴۴

ضریب پروتئینی مخمر نانوائی ۶,۲۵ می باشد [۱].

$$0.0704 \times 3947 = 277.8$$

کیلوگرم ازت خالص مورد نیاز جهت تیمار اول بر مبنای پروتئین

پیش بینی شده ۴۴ درصد

### محاسبه تئوریک میزان ازت مورد نیاز جهت تیمار دوم

جهت تیمار دوم میزان پروتئین ۴۶ درصد پیش بینی گردیده است و بر همین مبنا مشابه با نحوه محاسبه جهت تیمار اول میزان پایه ازت آن بشرح ذیل محاسبه می گردد.

$$7500 \text{ lit} \times \frac{0.05}{100} = 3750$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۱۰۰ درصد ماده خشک

$$3750 \div \frac{0.95}{100} = 3947$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۹۵ درصد ماده خشک

مبنای ۹۵ درصد ماده خشک بر اساس درصد واقعی ماده خشک خمیرمایه حاصله از درایر می باشد.

$$46 \div \frac{6}{25} = 7.36$$

درصد ازت مخمر حاصله بر مبنای پروتئین ۴۶ درصد

$$0.0736 \times 3947 = 290.5$$

کیلوگرم ازت خالص مورد نیاز جهت تیمار دوم بر مبنای پروتئین

پیش بینی شده ۴۶ درصد

### محاسبه تئوریک میزان ازت مورد نیاز جهت تیمار سوم

جهت تیمار سوم میزان پروتئین ۴۸ درصد پیش بینی گردیده است و میزان پایه ازت آن بشرح ذیل محاسبه می گردد:

$$7500 \text{ lit} \times \frac{0.05}{100} = 3750$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۱۰۰ درصد ماده خشک

$$3750 \div \frac{0.95}{100} = 3947$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۹۵ درصد ماده خشک

مبنای ۹۵ درصد ماده خشک بر اساس درصد واقعی ماده خشک

خمیرمایه حاصله از درایر می باشد

$$48 \div \frac{6}{25} = 7.68$$

درصد ازت مخمر حاصله بر مبنای پروتئین ۴۸ درصد

$$0.0768 \times 3947 = 303.1$$

کیلوگرم ازت خالص مورد نیاز جهت تیمار سوم بر مبنای

پروتئین پیش بینی شده ۴۸ درصد

### محاسبه تئوریک میزان ازت مورد نیاز جهت تیمار چهارم

جهت تیمار چهارم میزان پروتئین ۵۰ درصد پیش بینی گردیده

است و میزان پایه ازت آن بشرح ذیل محاسبه می گردد:

$$7500 \text{ lit} \times \frac{0.05}{100} = 3750$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۱۰۰ درصد ماده خشک

ازت اوره پایه ازته هر تیمار را تشکیل خواهد نمود لذا در گام بعدی باید میزان پایه فسفره تیمارها را مشخص نمود که بتوان بدنبال آن مقدار ازت تامین شده از این پایه را جهت هر تیمار مشخص کرد واز آنجاییکه میزان پایه فسفره در این تحقیق بعنوان یک متغیر مداخله گر فرض شده و جهت جلوگیری از تاثیر آن در نتایج آزمایشات میزان این متغیر در تمامی تیمارها یکسان فرض گردیده و مقدار این پایه بگونه ایی محاسبه شده که در نهایت از لحاظ تنوریک مخمر حاصله در تمامی تیمارها دارای ۲٫۲ درصد  $P_2O_5$  باشد لذا بر این مبنا نحوه محاسبه میزان پایه فسفره و بدنبال آن میزان ازت حاصله از آن بشرح ذیل خواهد بود:

$$۳۷۵۰ \div ۰/۰۵ = ۷۵۰۰ \text{ lit}$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۱۰۰ درصد ماده خشک

$$۳۷۵۰ \div ۰/۹۵ = ۳۹۴۷$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۹۵ درصد ماده خشک

مبنای ۹۵ درصد ماده خشک بر اساس درصد واقعی ماده خشک

خمیرمایه حاصله از درایر می باشد

$$۳۹۴۷ \times ۰/۰۲۲ = ۸۶۸$$

$P_2O_5$  کیلوگرم مورد نیاز جهت هر تیمار

$$۸۶۸ \times ۱۰۰ \div ۴۶ = ۱۸۸۷$$

کیلوگرم دی آمونیوم فسفات مورد نیاز جهت هر تیمار

دی آمونیوم فسفات مصرفی دارای ۴۶ درصد  $P_2O_5$  و دارای ۲۱

درصد ازت می باشد.

$$۱۸۸۷ \times ۰/۲۱ = ۳۹۰$$

کیلوگرم ازت حاصله از دی آمونیوم فسفات مصرفی جهت

هر تیمار

با توجه به محاسبات اخیر و محاسبات میزان کل پایه ازته مورد نیاز که در قبل محاسبه گردید، بنابراین جهت تعیین نهایی میزان پایه ازته مورد نیاز که باید توسط منبع تامین کننده آن یعنی اوره تامین شود، باید میزان کل پایه ازته را از میزان ازت حاصله از پایه فسفره کم شده تا میزان نیاز به پایه ازته یا معادل آن اوره جهت هر تیمار بدست آید:

تیمار اول:

$$۲۷۷/۸ - ۳۹۰/۵ = ۲۳۸/۳$$

کیلوگرم ازت مورد نیاز که باید توسط اوره تامین شود.

$$۳۷۵۰ \div ۰/۹۵ = ۳۹۴۷$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۹۵ درصد ماده خشک

مبنای ۹۵ درصد ماده خشک بر اساس درصد واقعی ماده خشک خمیرمایه حاصله از درایر می باشد.

$$۵۰ \div ۶/۲۵ = ۸$$

درصد ازت مخمر حاصله بر مبنای پروتئین ۵۰ درصد

$$۰/۰۸ \times ۳۹۴۷ = ۳۱۵/۷$$

کیلوگرم ازت خالص مورد نیاز جهت تیمار چهارم بر مبنای

پروتئین پیش بینی شده ۵۰ درصد

**محاسبه تنوریک میزان ازت مورد نیاز جهت تیمار پنجم**

جهت تیمار پنجم میزان پروتئین ۵۲ درصد پیش بینی گردیده

است و میزان پایه ازت آن بشرح ذیل محاسبه می گردد:

$$۳۷۵۰ \div ۰/۰۵ = ۷۵۰۰ \text{ lit}$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۱۰۰ درصد ماده خشک

$$۳۷۵۰ \div ۰/۹۵ = ۳۹۴۷$$

کیلوگرم خمیرمایه بر مبنای ۹۵ درصد ماده خشک

مبنای ۹۵ درصد ماده خشک بر اساس درصد واقعی ماده خشک

خمیرمایه حاصله از درایر می باشد.

$$۵۲ \div ۶/۲۵ = ۸/۳۲$$

درصد ازت مخمر حاصله بر مبنای پروتئین ۵۲ درصد

$$۰/۰۸۳۲ \times ۳۹۴۷ = ۳۲۸/۴$$

کیلوگرم ازت خالص مورد نیاز جهت تیمار پنجم بر مبنای پروتئین

پیش بینی شده ۵۲ درصد

## ۲-۵- منابع تامین کننده پایه ازته

همانطور که قبلاً" شرح داده شد منبع اصلی تامین ازت در تیمارها اوره می باشد ولی از آنجاییکه دی آمونیوم فسفات نیز بعنوان پایه فسفره دارای مقدار ۲۱ درصد ازت در خود می باشد لذا این ماده نیز بخشی از ازت مورد نیاز تیمارها را فراهم می کند و همچنین ملاس نیز بعنوان پایه کربنه با توجه به اینکه مقدار ازت آن ناچیز بوده و بیشتر آن قابل جذب توسط مخمر نمی باشد لذا در محاسبات تعیین میزان ازت مورد نیاز هر تیمار از آن صرف نظر می شود. بنابراین در محاسبه میزان نهایی ازت مورد نیاز مخمر جهت تیمارها باید میزان ازت پایه فسفره نیز جهت هر تیمار مشخص گردند که در نهایت مجموع ازت این منبع همراه با

تیمار، ملاس فرآوری شده در فرمانتاسیون مربوطه مورد استفاده قرار گرفت و جهت پایه ازته نیز مطابق توضیحات داده شده در قسمت مواد، معادل مقدار پایه ازته تعیین شده، محلول اوره حاوی ۲۵ درصد ازت استفاده شد. بعد از مشخص شدن تیمارها، هر تیمار بشکل یک فرمانتاسیون مطابق با مقادیر مشخص شده متغیرهای مستقل مربوطه انجام گرفت. در ادامه مقادیر سوبستراهای پایه کربنه وازته و تعیین درصدها و ضرایب مندرج در جدول شماره ۴ در ارتباط با هر تیمار به مشروح بیان گردیده اند. مخمرهای حاصله از فرمانتاسیونها مورد آنالیز قرار گرفته و سه آزمون مربوط به متغیرهای وابسته یعنی درصد پروتئین ( $Z_1$ ) و درصد قند تری هالوز ( $Y_1 - Y_5$ ) و قدرت ورآوری یا اکتیویته دو ساعته و نیم ساعته ( $X_1 - X_5$  و  $I_1 - I_5$ ) بر روی مخمرها انجام گرفت.

**Table 1** Design of molasses and protein Values with response surface method

Protein percent predicted%	Molasses percent predicted%
44	4
46	4.1
48	4.2
50	4.3
52	4.4

**Table 2** Model coefficients for Fermentation power

Fermentation power regression coefficient	Variables
1504.55	Model
3	$X_1$ (Molasses)
44	$X_2$ (protein percent)
-101.36	$X_1^2$
-206.36	$X_2^2$
-95	$X_1 X_2$

$p \leq 0.05$

**Table 3** Analysis of variance for Fermentation power models

P value	Regression coefficient	Variables
< 0.0001	Fermentation power	LACK OF FITNESS
	0.964	$R^2$ -Pred
	0.932	$R^2$ -Adj

$$238/3 \times 100 \div 46 = 518/04$$

کیلوگرم اوره مورد نیاز جهت تیمار اول

اوره مصرفی دارای ۴۶ درصد ازت می باشد.

تیمار دوم:

$$290/5 - 39/5 = 251$$

کیلوگرم ازت مورد نیاز که باید توسط اوره تامین شود.

$$251 \times 100 \div 46 = 546/65$$

کیلوگرم اوره مورد نیاز جهت تیمار دوم

تیمار سوم:

$$303/1 - 39/5 = 263/6$$

کیلوگرم ازت مورد نیاز که باید توسط اوره تامین شود.

$$263/6 \times 100 \div 46 = 573/04$$

کیلوگرم اوره مورد نیاز جهت تیمار سوم

تیمار چهارم:

$$315/7 - 39/5 = 276/2$$

کیلوگرم ازت مورد نیاز که باید توسط اوره تامین شود.

$$276/2 \times 100 \div 46 = 600/43$$

کیلوگرم اوره مورد نیاز جهت تیمار چهارم

تیمار پنجم:

$$328/4 - 39/5 = 288/9$$

کیلوگرم ازت مورد نیاز که باید توسط اوره تامین شود.

$$288/9 \times 100 \div 46 = 628/04$$

کیلوگرم اوره مورد نیاز جهت تیمار پنجم

### ۳- تعیین تیمارها

همانطور که بیان گردید جهت انجام این تحقیق مبنای محاسبات تئوریک پروتئین بر اساس ضرایب ۴۴ تا ۵۲ درصد و براساس روش سطح پاسخ در نظر گرفته شد و میزان تئوریک ملاس مصرفی نیز جهت هر تیمار یا به عبارتی هر فرمانتاسیون بر اساس ضرایب ۴ تا ۴٫۴ و براساس روش سطح پاسخ در نظر گرفته شدند (جدول ۱) که بدین طریق تعداد ۵ تیمار مشخص گردید. همانطور که از جدول تیمارها مشخص می باشد مقادیر تعیین شده پایه کربنه بر حسب ملاس خام بوده که مطابق توضیحات داده شده در قسمت مواد، معادل این مقدار ملاس جهت هر

Table 4 Define Treatments Table

Yeast Fermentation power obtained (0.5 hours) ml $\text{CO}_2$ /30min	Yeast Fermentation power obtained (2 hours) ml $\text{CO}_2$ /120min	Yeast trehalose sugar content obtained%	The actual percentage of yeast proteins obtained%	Protein prediction%	Nitrogen prediction%	Biomass carbon consumption rate than predicted	consumptions substrate utilization based- nitrogen (Kg) urea	Consumption carbon-based substrate (Kg) raw molasses	Treatments
I <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	Y <sub>1</sub>	Z <sub>1</sub>	44	7.04	4	518.04	15788	1
I <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	Y <sub>2</sub>	Z <sub>2</sub>	46	7.36	4.1	546.65	16182	2
I <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	Y <sub>3</sub>	Z <sub>3</sub>	48	7.68	4.2	573.04	16577	3
I <sub>4</sub>	X <sub>4</sub>	Y <sub>4</sub>	Z <sub>4</sub>	50	8	4.3	600.43	16972	4
I <sub>5</sub>	X <sub>5</sub>	Y <sub>5</sub>	Z <sub>5</sub>	52	8.32	4.4	628.04	17366	5

دستگاه رسم گردیده و اندازه گیری می شود. دستگاه ساخت شرکت SJA کشور سوئد می باشد [۱۸].

#### ۴-۳- آزمون تعیین میزان قند تری هالوز

این آزمون به روش اسپکتروفوتومتری و توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر شرکت بیوکروم (biochrom) با مدل Libra S11 ساخت کشور انگلیس انجام می گیرد [۱۹].

#### ۵- بحث و نتایج

تیمارها هر یک به شکل یک فرمانتاسیون به اجرا در آمدند و مخمرهای حاصله از هر یک از فرمانتاسیونها مورد تجزیه و آنالیز قرار گرفته و کلیه متغیرهای وابسته به هر تیمار محاسبه گردیدند و در نهایت نتایج در جدول شماره ۵ جمع آوری گردید.

#### ۴-۲- آزمون ها

##### ۴-۱- آزمون تعیین میزان پروتئین

جهت انجام این آزمون از دستگاه تمام اتومات کجلدال ساخت شرکت Gerhardt از کشور آلمان استفاده گردید. در این دستگاه سه بخش هضم و تقطیر و تیتراسیون بصورت اتومات صورت می گیرد [۱۷].

##### ۴-۲- آزمون تعیین میزان قدرت وراوری یا

##### اکتیویته (leavening ability)

این آزمون توسط دستگاهی بنام فرمانتوگراف صورت گرفته که نحوه کار آن بر اساس میزان گاز تولیدی ( $\text{ml CO}_2/\text{min}$ ) در طی تخمیر بوده که بصورت نموداری بر گراف موجود بر روی

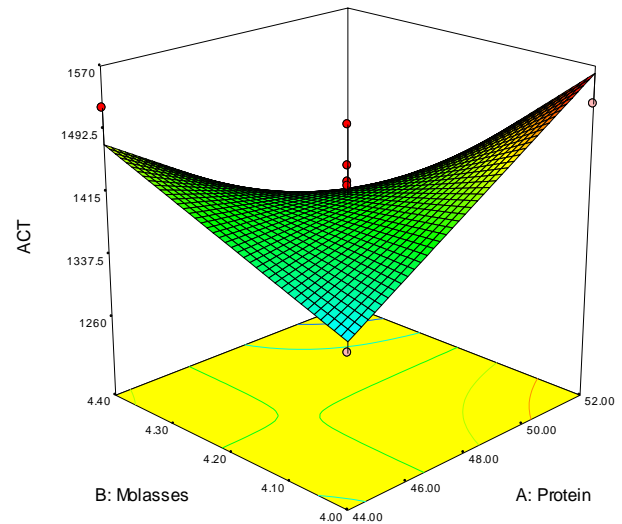
Table 5 Results of Treatment's Analysis

Yeast Fermentation power obtained (0.5 hours) ml $\text{CO}_2$ /30min	Yeast Fermentation power obtained (2 hours) ml $\text{CO}_2$ /120min	Yeast trehalose sugar content	The actual percentage of yeast proteins	Protein prediction%	Nitrogen prediction%	Biomass carbon consumption rate than predicted	consumptions substrate utilization based- nitrogen (Kg) urea	Consumption carbon-based substrate (Kg) raw molasses	Treatments
245	1335	17.24	43.22	44	7.04	4	518.04	15788	1
270	1425	18.36	45.66	46	7.36	4.1	546.65	16182	2
300	1500	20.78	47.68	48	7.68	4.2	573.04	16577	3
305	1550	19.89	49.58	50	8	4.3	600.43	16972	4
225	1290	16.12	51.45	52	8.32	4.4	628.04	17366	5

دوساعته و نیم ساعته خواهد گردید و همچنین رابطه مستقیمی بین افزایش میزان قند تری هالوز با اکتیویته دوساعته وجود نداشته و به گونه ایی نبوده که با افزایش میزان قند تری هالوز، میزان اکتیویته یا قدرت و رآوری نیز افزایش یابد بلکه مشخص شد که در دامنه ۲۱-۱۹ درصد قند تری هالوز یعنی در تیمارهای سوم و چهارم مخمر حاصله از بیشترین اکتیویته دوساعته برخوردار بوده است. اما آنگونه که مشخص شد تیمارهایی که کمتر از دامنه مقادیر قند تری هالوز ذکر شده برخوردار بوده اند دارای اکتیویته کمتری نیز نسبت به این دو تیمار بودند.

## ۶- نتیجه گیری کلی

از آنجا که هدف از انجام این تحقیقات بررسی تاثیرات میزان پروتئین و درصد قند تری هالوز بر روی مهمترین فاکتور کیفی مخمر نانویی یعنی قدرت و رآوری یا همان اکتیویته مخمر حاصله می باشد و بدنبال آن هدف دیگر دستیابی به بهترین و یا عبارتی اپتیمم متغیرهای مستقل یعنی میزان پایه های کربنه و ازته می باشد لذا با بررسی شکل ۱ و تجزیه و تحلیل جداول می توان بهترین تیمار را که دارای بهترین فاکتور کیفی که همان قدرت و رآوری یا اکتیویته دو ساعته و نیم ساعته می باشد را شناسایی نمود که بدیهی بوده این تیمار دارای بهینه ترین مقادیر و ضرایب متغیرهای مستقل پایه کربنه و ازته خواهد بود و در نهایت فرمولاسیون این تیمار با عبارتی میزان پایه های کربنه و ازته آن بعنوان بهترین در بین تیمارهای مورد آزمون قرار گرفته می باشد. لذا با توجه به این توضیحات مشخص می گردد که تیمار چهارم با داشتن بیشترین مقادیر قدرت و رآوری یا همان اکتیویته دوساعته و نیم ساعته در بین سایر تیمارها بعنوان تیمار برتر انتخاب شده و لذا این تیمار همانطور که شرح داده شد دارای بهترین ضرایب مصرفی متغیرهای مستقل پایه کربنه و ازته خواهد بود و همچنین نتیجتاً "فرمولاسیون فرمانتاسیون این تیمار با این ضرایب پایه های کربنه و ازته نیز در بین سایر تیمارها برتر خواهد گردید در ادامه، جمع بندی مشخصات تیمار برتر با توجه به توضیحات فوق به شرح جدول شماره ۶ بیان می گردد:



**Fig 1** correlation between Fermentation power and molasses and protein with response surface method

## ۵-۱- آنالیز سطح پاسخ

نتایج تجزیه واریانس برای دو متغیر میزان پروتئین و ملاس در جدول ۳ و نتایج مربوط به ارزیابی هر یک از مدل ها در جدول ۲ ارائه شده است. با توجه به اینکه  $p \leq 0.05$  می باشد مدل ارزیابی قابل قبول بوده و کلیه آزمایش ها در سطح اطمینان ۹۵٪ انجام شد. در شکل ۱ تاثیر هر یک از فاکتورهای میزان پروتئین و ملاس، بر میزان قدرت و رآوری دو ساعته ارائه شده است. این شکل نشان میدهد که میزان قدرت و رآوری با ترکیب مناسب دو فاکتور سوبسترای مصرفی پایه کربنه و پایه ازته در تیمار شماره ۴ در بیشترین مقدار خود بوده است. با توجه به بررسی جدول ۵ مشخص می گردد که با افزایش میزان پروتئین مخمر با یک روند افزایشی اکتیویته (قدرت و رآوری) نیز مواجه می شویم ولی بدین گونه نبوده که افزایش میزان اکتیویته همراستا با افزایش میزان پروتئین صورت گیرد. و این روند افزایشی اکتیویته تا میزان پروتئین ۹/۵۸ درصد مربوط به تیمار ۴ وجود داشته ولی با افزایش میزان پروتئین به ۵۱/۴۵ مربوط به تیمار ۵ با کاهش ناگهانی اکتیویته مواجه می شویم. بنابراین نتیجه گرفته شد که تا میزان خاصی از پروتئین با افزایش اکتیویته مواجه خواهیم شد و افزایش بیشتر از آن باعث ایجاد نتیجه معکوس و کاهش اکتیویته



Yeast Fermentation power obtained (0.5 hours) ml co <sub>2</sub> /30min	Yeast Fermentation power obtained (2 hours) ml co <sub>2</sub> /120min	Yeast trehalose sugar content obtained%	The actual percentage of yeast proteins obtained%	Protein prediction%	Nitrogen prediction%	Biomass carbon consumption rate than predicted	consumptions substrate utilization based- nitrogen (kg) urea	Consumption carbon-based substrate (Kg) raw molasses	Treatments
305	1550	19.89	49.58	50	8	4.3	600.43	16972	4

Table 6 Specifications the Best Treatment

فرمولاسیون تیمار پنجم بعنوان پست ترین تیمار در مقایسه با فرمولاسیون تیمار چهارم بعنوان برترین تیمار جهت تولیدات انبوه تجاری خود استفاده نماید، در اینصورت این واحد نه تنها از لحاظ کیفی پایتترین مخمر تولیدی را خواهد داشت بلکه از لحاظ اقتصادی نیز متحمل ضرر و زیان خواهد گردید.

#### ۷- منابع

- [1] Reed, G. Yeast Technology, Chapter 6., AVI Publishing Co. West Port, C.T. 1990.
- [2] Trevelyan, W.E. and Harrison, J.S. (1956) Studies on yeast metabolism. The trehalose content of baker's yeast during anaerobic fermentation. *Biochem. J.*, 62, 177-182
- [3] Research Institute for Baker's Yeast (VH Berlin)
- [4] Gadd, G.M., Chalmers, K., and Reed, R.H. (1987) The role of trehalose in dehydration resistance of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 48, 249-254.
- [5] Hottinger, T., Boller, T., and Wiemken, A. (1987) Rapid changes of heat and desiccation tolerance correlated with changes of trehalose content in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett.*, 220, 113-115.
- [6] Li Yin, Chen Jian, Song Qi, Yoshio Katakura, Lun Shiyi, (Lab. of Environmental Biotechnology, School of Biotechnology, Wuxi University of Light Industry, Wuxi 214036), (Shanghai Center of Biotechnology, Academia Sinica, Shanghai 200233); Fed batch Culture Strategy for High Yield of Baker's Yeast with High Fermentative Activity[J]; CHINESE

با بررسی آزمونهای صورت گرفته و تجزیه و تحلیل اطلاعات بدست آمده از تیمارها به آسانی قابل استنباط بوده که نقش میزان پایه های کربنه و ازته بر روی فاکتور کیفی قدرت و رآوری بسیار زیاد بوده و این دو سوبسترا از اساسی ترین منابع تاثیرگذار بر روی کیفیت مخمر حاصله می باشند و مورد دیگر استنتاج شده رابطه میزان این دو پایه با فاکتور کیفی قدرت و رآوری یا اکتیویته بوده که بطور محسوسی آشکار گردید که این رابطه مستقیم نبوده و باید بهینه ترین مقادیر را بدست آورده و مدنظر داشت لذا همانطور که در فصل نتایج بطور مفصل بحث گردید از آزمونهای انجام گرفته بر روی تیمارها و نتایج بدست آمده مشخص گردید که ضرایب بهینه با توجه به میزان ماکزیم فاکتور کیفی (اکتیویته دوساعته و نیم ساعته) در تیمار چهارم وجود داشته است پس بنابراین نتایج این تحقیقات نشان داده که با مدنظر قرار دادن این ضرایب در تیمار چهارم، می توان به مقادیر بهینه و اپتیمم پایه های کربنه و ازته دست یافت و با مدنظر قرار دادن این ضرایب و درصد های بهینه، از آنها بعنوان الگویی برای تولیدات انبوه تجاری استفاده نمود. بنابراین با توجه به این توضیحات و نتایج تیمارها بدیهی بوده که استفاده بیشتر از مقادیر بهینه و ضرایب بدست آمده در تیمار چهارم برای انجام تولیدات تجاری مخمر نانوائی نه تنها از لحاظ کیفی مورد تایید نبوده بلکه از لحاظ توجیه اقتصادی نیز باعث ضرر و زیان خواهد شد که هر دو جنبه برای واحدهای تولیدی بسیار مهم و حائز اهمیت می باشند و استفاده کمتر از مقادیر بهینه در تیمار چهارم نیز منجر به تولید مخمر نامرغوب از جنبه کیفی خواهد گردید. بعنوان مثال چنانچه واحد تولیدی از

- [12] STEHLIK-THOMAS, V. et al. Uptake of by yeast cells and its impact on biomass production. *Acta Alimentaria*, v. 32, n. 3, p. 279-287, 2003. <http://dx.doi.org/10.1556/AAlim.32.2003.3>.
- [13] SUHAJDA, A. et al. Preparation of selenium yeasts I. Preparation of selenium-enriched *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, v. 14, n. 1, p. 43-7, 2000. [http://dx.doi.org/10.1016/S0946-672X\(00\)80022-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0946-672X(00)80022-X)
- [14] WALTER, F. G. The manufacture of compressed yeast. 2. ed. London: Chapman & Hall, 1953. 317 p.
- [15] WINDE, J. H. D. Functional genetics of industrial yeasts. Berlin; New York: Springer, 2003. 367 p. (Topics in current genetics, n. 2).
- [16] De Vuyst, L., Neysens, P., 2005. The yeast microflora: biodiversity and metabolic interactions. *Trends Food Sci. Technol.* 16, 43–56.
- [17] Research Institute for Baker's Yeast(VH Berlin),SOP-Nr:H02
- [18] Research Institute for Baker's Yeast(VH Berlin),SOP-Nr:H04
- [19] Research Institute for Baker's Yeast(VH Berlin),SOP-Nr:H08
- JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY;1997-02 [7] BASAPPA, S.C. Baker's yeast production, quality and utilization. In: JOSHI, V. K.; PANDEY, A. (Ed.). *Biotechnology: foodfermentation: microbiology, biochemistry, and technology*. New Delhi: Educational Publishers & Distributors, Exclusive distributors, Asiatech Publishers Inc., 1999. cap. 26, p. 1113-1143.
- [8] DEWETTINCK, K. et al. Nutritional value of bread: Influence of processing, food interaction and consumer perception. *Journal of Cereal Science*, v. 48, n. 2, p. 243-257, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcs.2008.01.003>
- [9] PAS, M. et al. Iron enriched yeast biomass - a promising mineral feed supplement. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 8, p. 1622-8, 2007. PMID: 16935492. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2006.06.002>
- [10] PHILPOTT, C. C.; PROTCHEENKO, O. Response to zinc deprivation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Eukaryotic Cell*, v. 7, n. 1, p. 20-7, 2008. PMID:17993568. PMCID:2224162. <http://dx.doi.org/10.1128/EC.00354-07>
- [11] STABNIKOVA, O. et al. Ukrainian dietary bakery products with selenium-enriched yeast. *LWT*, v. 41, n. 5, p. 890-895, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2007.05.021>

## Optimization of Trehalose sugar and protein levels and thier impact on the baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) fermentation power with response surface method

Azhdari, E. A. <sup>1</sup>, Mahmoudzadeh Akherat, S. R. <sup>2\*</sup>, Gholi Jafari, J. <sup>3</sup>, Parhizkar, M. <sup>4</sup>

1. PhD of DBA and Management , Razavi Yeast Co.
2. M. Sc. Of Food Science and Technology , Razavi Yeast Co.
3. M. Sc. Of Chemical Engineering , Razavi Yeast Co.
4. M. Sc. Of Chemical Engineering , Razavi Yeast Co.

(Received: 2016/04/03 Accepted: 2016/12/05)

The aim of this study is to achieve familiarity with protein and trehalose structure in bakers yeast and also have a better understanding of the role and function of them on the most important quality factor of bakers yeast- leavening ability . In this study 5 treatments tested in industrial scale have been observed in a way that each have been done in the form of a fermentation in one jet pipe, no stirrer fermenter and different level of carbon and nitrogen sources as the fermentation substrate have been used in each fermentation. Different amounts and levels selected with response surface method. The achieved bakers yeast from each fermentation have been tested in terms of protein and trehalose level and 2-hour and 30-min leavening ability .Regarding the tests have been done on achieved bakers yeast of different treatments, the optimum amount of protein and trehalose percentage or on the other hand the optimum carbon base or nitrogen base have been determined according to maximum leavening ability among the 5 treatments. Finally treatment No. 4 with the most 2-hour and 30-min leavening ability in turn 1550 mlCO<sub>2</sub>/120min and 305ml CO<sub>2</sub>/30min has the optimum amount of protein and trehalose percentage in turn 49.58 and 19.89. So this treatment have been determined as the best treatment among the five treatments and obviously its fermentation plan as the best plan in terms of the most important quality factor- leavening ability and in terms of carbon and nitrogen sources level as well.

**Keywords:** Baker's Yeast, Fermentation power, Protein, Trehalose, Response surface method

---

\* Corresponding Author E-Mail Address: mahmoudzadehra@gmail.com