بررسی اثر تحریک کنندگی پودر هسته خرمای کبکاب و مرداسنگ بر رشد مخمر ساکارومایسز سرویزیه در تولید سرکه سیب

محمد شریفی[1]، محمدرضا سعیدی اصل[2]، محمدحسین حداد خداپرست[3]، عیسی جاهد[4]*، احمد رضا عابدی نیا[5]، علی سرداریان[6]

[1]دانش آموخته ی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

[2] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد سبزوار، دانشگاه آزاد اسلامی، سبزوار، ایران

[3] گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

[4] دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، دانشگاه فردوسی، مشهد، ایران

[5] گروه علوم و صنایع غذایی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران

[6]دانش آموخته ی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد قوچان، دانشگاه آزاد اسلامی، قوچان، ایران

تاریخ دریافت:1392/2/14 تاریخ پذیرش: 1392/10/15

چکیده

تولید سرکه شامل دو مرحله تخمیر الکلی و اکسیداسیون استیکی می باشد. یکی از مهمترین فاکتورهایی که ممکن است مراحل تولید سرکه را تحت تاثیر قرار دهد، مواد مغذی موجود در سوبسترا جهت فعالیت بیشتر میکروارگانیسم است. در این پژوهش اثر افزودن پودر هسته خرمای دو نوع واریته کبکاب و مرداسنگ به صورت پودر هسته کامل و پودر چربی گیری شده در مقادیر 1، 2 و 3 درصد و خاکستر پودر در مقادیر 0/1، 0/2 و 0/3 درصد به عصاره سیب با بریکس 18 به منظور تولید سرکه سیب بررسی شد. نتایج نشان داد که افزودن سه نوع پودر هسته خرمای کامل، پودر هسته بدون چربی و خاکستر پودر در مقادیر متفاوت منجر به افزایش سرعت رشد مخمر در مرحله تخمیر الکلی و افزایش راندمان تولید الکل نسبت به نمونه شاهد شد. افزایش تولید الکل در این مرحله منجر به افزایش سوبسترای لازم برای باکتری اسید استیک و در نتیجه افزایش راندمان تولید سرکه می شود. همچنین مشخص شد که اختلاف چشمگیری بین دو واریته خرما از نظر تولید الکل و اسید استیک وجود ندارد که دلیل آن احتمالا ترکیب شیمیایی مشابه در این دو واریته خرما باشد.

واژه های کلیدی: پودر هسته خرما، تخمیر الکلی، سرکه سیب، ساکارومایسز سرویزیه

* مسوول مکاتبات: jahed65@gmail.com

1- مقدمه

از جمله تغییرات طبیعی که در آب میوه‌ها در دمای معمولی رخ می‌دهد، تخمیر الکلی توسط مخمرها و بدنبال آن اکسیداسیون الکل تولید شده توسط اسید استیک باکتریهاست، چنانچه اسید استیک به اندازه کافی تولید شود محصول حاصل «سرکه»[1] نامیده می‌شود. بنابراین سرکه را می‌توان یک «چاشنی»[2] غذایی تعریف نمود که در نتیجه تخمیر الکلی مواد قندی و نشاسته‌ای و اکسیداسیون الکل حاصل به اسیداستیک توسط میکروب‌هایی خاص تولید می‌شود (12).

کلمه سرکه از واژه فرانسوی Vinaigre به معنی شراب ترش مشتق شده است. این محصول به روش‌های مختلف و با استفاده از مواد اولیه گوناگون قابل تولید است. از جمله مواد اولیه مصرفی می‌توان به انواع شراب (سفید، قرمز و شراب اسپانیایی)، شراب سیب[3]، مالت و الکل خالص اشاره نمود (19).

بر اساس تعریف استاندارد ایران سرکه بهداشتی فرآورده‌ای است که از تخمیر الکلی ملاس و سپس تخمیر استیکی الکل رقیق شده حاصل می‌گردد و بایستی دارای حداقل 5% اسید استیک باشد(1).

با توجه به تعریف سرکه که از منابع مختلف قندی یا نشاسته‌ای قابل تهیه می‌باشد، برای اولین بار در سال 1951 سازمان غذا و دارو در ایالت متحده استانداردهای انواع سرکه را اعلام کرد. در استاندارد FDA کلمه سرکه مترادف با سرکه سیب بوده و سالیان دراز در این کشور، تولید صنعتی سرکه، فقط سرکه سیب بوده است (18). معمولاً نام توصیفی سرکه‌ها از ماده اولیه‌ای که از آن تهیه می‌شوند ناشی می‌شود. مثلاً سرکه سیب از آب سیب، سرکه مالت از غلات و سرکه الکلی از الکل تهیه می‌شود. سرکه به‌عنوان یک ماده نگهدارنده و طعم‌دهنده در صنعت غذا دارای کاربردهای زیادی است، تنوع وسیع فرآورده‌های حاوی سرکه و کاهش مصرف الکل در سال‌های اخیر در افزایش تولید این محصول نقش بسزایی داشته است (2).

در حال حاضر مصرف سرکه سیب در بسیاری از کشورها به‌خصوص کشورهای حوزه آتالانتیک روز به‌روز افزایش یافته و از آن به عنوان غذای عملگرا[4] نام می‌برند (14 و 20).

به طور کلی سرکه با توجه به دارا بودن اسیدیته لازم، به هضم هر چه بهتر غذا کمک می کند علاوه بر این سرکه سیب خواص دیگری از جمله: تعدیل و پایین آوردن چربی خون، کمک به باز کردن عروق، کمک به سوخت و ساز بدن، کاهش فشار خون دارد.

تولید سرکه شامل دو مرحله اساسی تخمیر الکلی و اکسیداسیون استیکی می باشد. عوامل مؤثر در مرحله تخمیر الکلی که کنترل آنها از اهمیت زیادی برخوردار است شامل نوع مخمر، غلظت قند، مواد مغذی، pH، غلظت اکسیژن و درجه حرارت می باشد. مهمترین عوامل مؤثر در مرحله اکسیداسیون استیکی عبارتند از نوع میکروواارگانیسم، غلظت الکل، اکسیژن و درجه حرارت. لی طی سال‌های 1995-1989 با بررسی و تحقیق در زمینه تولید سرکه سیب در انگلیس بیان کرد که بخش اعظم سرکه در این کشور از کنسانتره تولید می‌شود و در فرآیند تولید، با استفاده از مخمر خشک نیایستی مقدار قند محلول در آب سیب بیش از 15% و اسیدیته آن 1-0/1% باشد و برای کنسانتره آب سیب بریکس حدود 17 پیش‌بینی گردیده است که در این حالت مقدار الکل تولیدی 10-9 درجه الکلی یا کمی بالاتر می‌باشد که در شرایط مناسب به 14 درجه الکل و نهایتاً در طی چند هفته به 15 درجه الکلی خواهد رسید (14 و 15). عطای صالحی و همکاران (1389) اثر پودر هسته خرما را بر روند تولید سرکه از شیره سیب و تاثیر مقدار پودر هسته خرما در شیره سیب بر میزان افزایش درصد الکل بررسی نمود (2).

کوباتا و همکاران در سال 1988 فرآوری و تولید سرکه از میوه‌ها و غلات را مورد بررسی قرار دادند آن‌ها میزان قند و مواد ازته به‌کار رفته در تولید سرکه میوه و غلات را به‌ترتیب 4 میلی‌گرم در میلی‌لیتر و 0/48 میلی‌گرم در میلی‌لیتر تعیین نمودند و درجه الکلی را 8/1 درصد گزارش نمودند (13). افزودن ماده مغذی مکمل مناسب می تواند منجر به افزایش سرعت رشد مخمر و در نتیجه افزایش راندمان تولید و کوتاه شدن زمان این مرحله شود (3).

در این مطالعه اثر افزودن پودر هسته دو نوع خرمای کبکاب و مرداسنگ به صورت کامل، بدون چربی و خاکستر شده به کنسانتره آب سیب رقیق‌سازی شده به عنوان سوبسترای مخمر و تاثیر آن بر میزان تولید الکل و اسید استیک بررسی شد.

1- Vinegar.
2- Condiment.
3- Cider.
4- Functional foods.

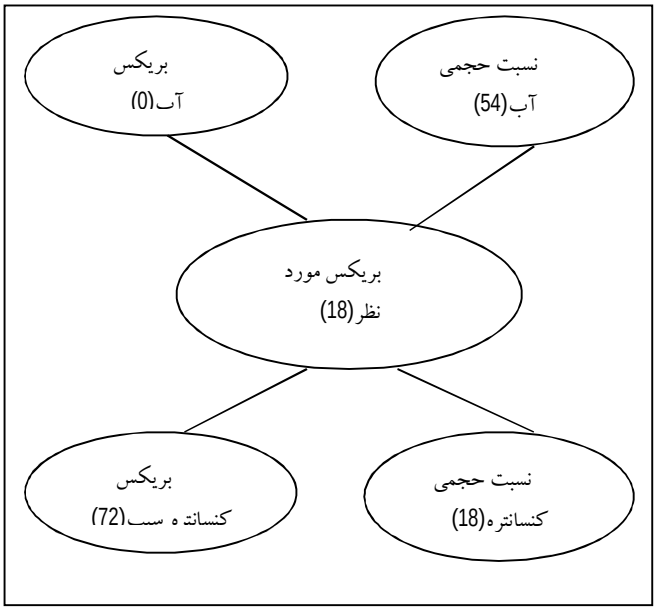
2- مواد و روش ها

2-1- آماده سازی نمونه

جهت آماده‌سازی نمونه برای آزمون‌های موردنظر پس از تهیه هسته‌های خرما از کارگاه‌های تهیه شیره خرما در شهرستان بوشهر وحذف ناخالصی‌های چسبیده به آنها از طریق شستشو و خشک کردن آنها در دمای 50 درجه سانتیگراد، با استفاده از آسیاب (مدل Fritsch ساخت آلمان) هسته‌ها تا ابعاد یک میلی‌متر خرد و تا زمان آزمون در یخچال نگهداری شدند.

2-2- رقیق‌سازی کنسانتره آب سیب

برای رقیق‌سازی کنسانتره آب سیب و دستیابی به نسبت مناسب اختلاط آن با آب برای رسیدن به آب سیب با بریکس 18 فرمول پیرسون استفاده گردید.



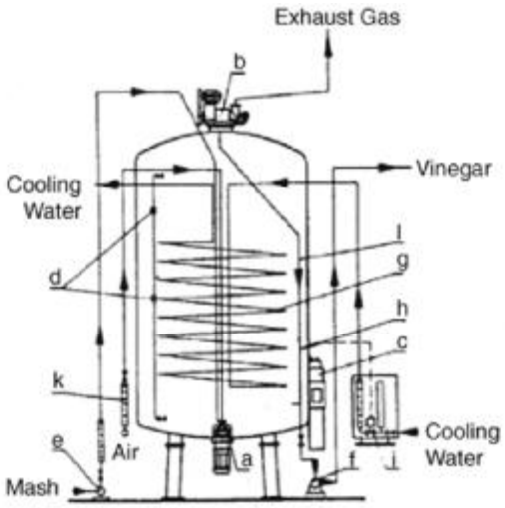
شکل 1- روش پیرسون برای تعیین بریکس مورد نظـر آب

2-3- روش کار

کنسانتره آب سیب رقیق شده با بریکس 18 به ظروف پلاستیکی 7 کیلوگرمی منتقل و pH آن ها روی 4/5 تنظیم گردید. سپس10 گرم مخمر خشک فعال ساکارومایسس سرویزیه تهیه شده از کارخانه ایران ملاس به ظروف پلاستیکی افزوده شد. سپس به ترتیب پودر هسته خرما و پودر هسته خرمای چربی گیری شده به نسبت 1، 2 و 3 درصد و خاکستر پودر هسته خرما به نسبت 0/1، 0/2 و 0/3 درصد افزوده شده و دبه ها دردمای 26 درجه نگهداری شدند. پس از مدت زمان 144 ساعت و پایان یافتن مرحله تخمیر الکلی، درصدالکل با استفاده از روش استاندارد AOAC به شماره 950/04 اندازه گیری شد (7)، به این ترتیب که پس ازصاف کردن مایع الکلی حجم معینی از آن را تقطیر نموده سپس ضریب شکست مایع حاصل از تقطیر با رفراکتومتر اندازه‌گیری شده و در پایان با استفاده ازجداول خاص ضریب شکست تبدیل به الکل برحسب درصد حجمی تعیین گردید. لازم به ذکر است به دلیل اینکه تا مدت زمان حدود 144 ساعت به میزان درصد الکلی افزوده می شد و از آن ساعت به بعد دیگر افزایش چشمگیری در میزان درصد الکلی دیده نشد، لذا زمان در این فرآیند ثابت در نظر گرفته شد. پس از 144 ساعت درصد الکل به بیشترین میزان خود می رسید و برای تبدیل آن به سرکه در کمترین زمان ممکن، مایع الکلی به استاتور فرینگز انتقال داده می شد (شکل 2). این سیستم با دارا بودن کویل (لوله کشی داخلی خنک کننده) با کنترل دمای محیط و تزریق اکسیژن به پیشرفت پروسه تولید سرکه سرعت می دهد. پس از 48 ساعت اسیدیته به روش تیتراسیون اندازه گیری شد.

2-4- طرح آماری و تجزیه و تحلیل داده ها

جهت بررسی نتایج، از طرح آماری کاملا تصافی به روش فاکتوریل استفاده شد. اطلاعات با استفاده از نرم افزار آماری SAS ویرایش 9/1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال آلفا برابر با 0/05 با همین نرم افزار انجام گردید. متغیرهای فرآیند شامل نوع پودر هسته خرما افزوده شده و غلظت بکار رفته از پودر هسته خرما بود که با سه سطح (پودر هسته کامل و بدون چربی در سطوح 1 و2 و 3 درصد و خاکستر پودر هسته در سطوح 0/1 و 0/2 و 0/3 درصد) و دو تکرار انجام شد. بنابراین در مجموع 36 آزمایش برای دو نوع پودر هسته خرمای کبکاب و مرداسنگ انجام شد. پارامتر های اندازه گیری شده شامل درصد الکل در پایان مرحله تخمیر الکلی و درصد اسیدیته بر حسب اسید استیک در پایان مرحله استیکی بود. در نهایت میانگین بهینه به دست آمده از شرایط تولید الکل و اسید توسط روش t-test با نمونه شاهد مورد مقایسه قرار گرفت. برای ترسیم نمودارها نیز از نرم افزار Microsoft Excel استفاده گردید.



شکل 2- استاتور فرینگز

جدول 1- خلاصه نتایج جدول آنالیز واریانس تاثیر پودر هسته خرمای کبکاب بر میزان تولید الکل در عصاره سیب

منبع تغییرات	درجه آزادی	Mean Square	F- Value	p-value
نوع پودر هسته خرما	2	0/72	4/74	0/028
غلظت پودر بکار رفته	2	0/60	3/97	0/045
اثرات متقابل	4	0/16	1/07	0/426
خطا	9	0/14		
کل	17			

3-نتایج و بحث

3-1- بررسی اثر متغیرهای نوع پودر هسته خرمای کبکاب و غلظت آن ها بر میزان تولید الکل

نتایج آنالیز واریانس اثر متغیرهای فرآیند بر میزان تولید الکل در جدول 1 نشان داده شده است. طبق نتایج جدول ANOVA و مشاهده اندیس های P و F ملاحظه می شود که اثرات نوع پودر هسته خرما که شامل پودر هسته کامل، بدون چربی و خاکستر شده می باشد، و همچنین غلظت های پودر بکار رفته بر میزان تولید الکل در سطح آلفا برابر 0/05 معنی دار شده است (P<0/05) ولی اثر متقابل این دو پارامتر بر درصد تولید الکل معنی دار نبود (P 0/05 <). نتایج نشان داد که نوع پودر هسته خرمای کبکاب بر میزان تولید الکل نسبت به متغیر دیگر فرآیند یعنی غلظت های بکار رفته از انواع پودر بیشتر موثر بوده است.

مقایسه میانگین انواع پودر هسته خرمای کبکاب اضافه شده به عصاره سیب نیز نشان داد که در بین سه نوع پودر به کار رفته، پودر هسته خرمای کامل بیشترین تاثیر را داشته است به طوری که حداکثر راندمان تولید الکل که برابر 9/2 درصد می باشد، مربوط به پودر هسته کامل است (شکل 3). همان طور که در شکل 3 مشاهده می شود بین میانگین پودر هسته کامل و بدون چربی از نظر درصد تولید الکل تفاوت معنی داری وجود ندارد، ولی تاثیر پودر بدون چربی کمتر است. خاکستر پودر هسته کمترین تاثیر را بر راندمان تولید الکل توسط مخمر داشت. دلیل بالا تر بودن میزان الکل با افزودن پودر کامل هسته به عصاره سیب نسبت به دونوع دیگر پودر، احتمالا به دلیل غنی بودن پودر هسته کامل از مواد مغذی مورد نیاز برای مخمر باشد. هسته خرمای کبکاب حاوی مقادیر زیادی کربوهیدرات (83/8%)، چربی (9/6%)، پروتئین (5/5%) و عناصر معدنی (1/1%) می باشد. با تبدیل هسته خرما به خاکستر، در واقع بخش اعظم مواد مغذی مورد نیاز مخمر شامل مواد آلی، قندها و اسیدهای چرب از بین می رود. این امر منجر به کاهش شدید فعالیت مخمر و در نتیجه کاهش راندمان تولید الکل می شود.

آل فارسی و همکاران (2007) ترکیب شیمیایی، فیبرهای غذایی، ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی سه رقم خرمای مابسیلی[1]، آمسلا[2] و شهال[3] و همچنین شربت و هسته آنها را مورد بررسی قرار دادند و پی بردند که در تمامی ارقام خرمای مورد مطالعه و همچنین شربت و هسته آنها کربوهیدرات‌ها ترکیب غالب بوده و پس از آن رطوبت همراه با مقدار کمی پروتئین، چربی و خاکستر قرار دارد. بیشترین مقدار چربی را در هسته‌ها مشاهده نمودند که از 5/02 در مابسیلی تا 5/90 گرم در 100 گرم آمسلا متغیر بوده است. علاوه بر این هسته با داشتن 85/15-77/75 گرم در 100 گرم وزن مرطوب فیبر غذایی منبع مناسبی از این ترکیب بوده است. در مقایسه با خرمای کامل و شربت، هسته دارای بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی بوده است (5).

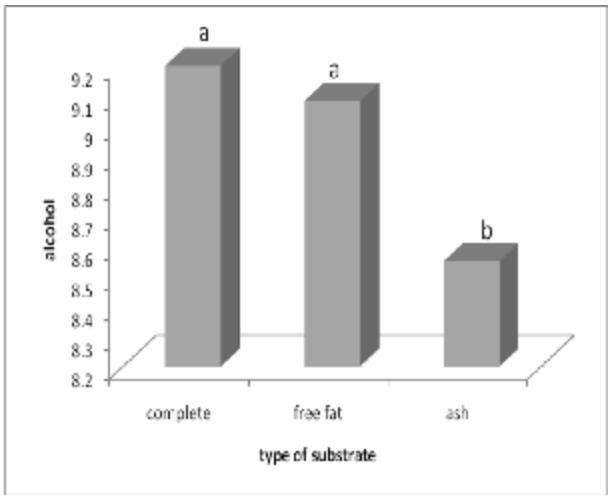
با مقایسه میانگین های غلظت سه نوع پودر ذکر شده مشاهده شد که پودر هسته کامل و چربی گرفته شده در سطح 2 درصد و پودر خاکستر شده هسته در سطح 0/2 درصد بیشترین تاثیر را بر راندمان تولید الکل داشت، به طوری که بیشترین مقدار الکل که برابر 9/25 درصد بود در سطح 2 و 0/2 درصد به دست آمد. از نظر آماری میانگین سطوح 3 درصد (0/3 درصد برای خاکستر هسته) با سطوح 1 و 2 درصد تفاوت معنی داری نداشت (شکل 4)، یعنی افزایش بیش از 2 درصد پودر هسته به عصاره سیب تاثیر معنی داری در افزایش فعالیت مخمر ساکارومایسز و در نتیجه میزان الکل تولیدی توسط آن ندارد. به طور کلی نتایج حاصل از مقایسه اثرات متقابل بین نوع پودر بکار رفته و غلظت آن ها نشان داد که پودر هسته کامل با سطح 2 درصد بیشترین راندمان تولید الکل را داشت که مقدار آن برابر 9/75 درصد بود. در نهایت با مقایسه این نقطه بهینه با نمونه شاهد (راندمان الکلی برابر 7/4 درصد) مشخص شد از نظر آماری تفاوت معنی داری بین این دو وجود دارد و استفاده از پودر هسته خرما تاثیر مثبتی بر راندمان تولید الکل و در نتیجه سرکه حاصل از آن دارد.

نتایج مشابهی توسط عطای صالحی و همکاران (1389) گزارش شده است. این محققین با بررسی اثر پودر هسته خرما بر راندمان تولید الکل در مرحله تخمیری سرکه سیب گزارش دادند که افزودن مقادیر 1 و2 درصد پودر هسته خرما به عصاره سیب باعث افزایش معنی داری در میزان الکل تولیدی نسبت به نمونه شاهد می شود (2).

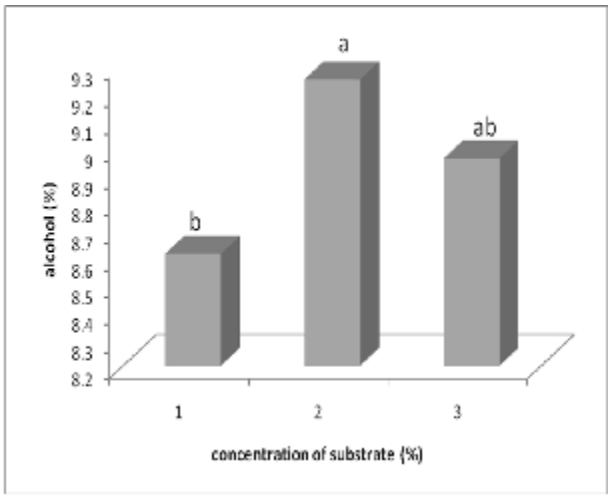
1- Mabseeli.

2- Um- sellah.

3- Shahal.



شکل 3- رابطه بین نوع پودر خرمای کبکاب به کار رفته و تولید الکل



شکل 4- رابطه بین غلظت های پودر خرمای کبکاب به کار رفته در هر سه نوع پودر و تولید الکل

ناسیب و همکاران (1999) با بررسی اثر افزودن هیدرولیزات هسته خرما به عنوان منبع نیتروژن به محیط کشت تولید استرپتوکوکوس ترموفیلوس گزارش نمودند که افزودن مقادیر مختلف هیدرولیزات هسته خرما به عنوان تنها منبع نیتروژن باعث افزایش تولید این باکتری می شود. این محققان همچنین اعلام کردند که با افزودن مخلوط اوره و خاکستر هسته خرما به عنوان منبع مواد معدنی به محیط کشت حاوی عصاره قندی خرما، هیدرولیزات هسته خرما و اوره می تواند جایگزین سولفات منیزیم و سولفات منگنز در محیط های معمولی شود (17).

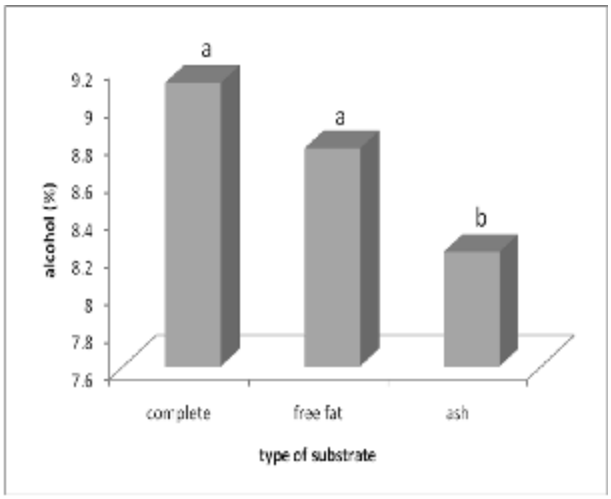
3-2- بررسی اثر متغیرهای نوع پودر هسته خرمای مرداسنگ و غلظت آن ها بر میزان تولید الکل

مطابق داده های نتایج جدول ANOVA ملاحظه می شود که در مورد پودر هسته خرمای مرداسنگ نیز نتایج مشابه خرمای کبکاب بود. سطح معنی داری و MS متغیرهای فرآیند تولید سرکه سیب نشان می دهد که نوع پودر هسته خرمای مرداسنگ نسبت به غلظت های بکار رفته تاثیر بیشتری بر راندمان تولید الکل داشته است ($P < 0/01$). اثر متقابل نوع پودر هسته خرمای مرداسنگ و غلظت های بکار رفته مشابه خرمای کبکاب در سطح آلفا برابر 0/05 معنی دار نبود (جدول 2).

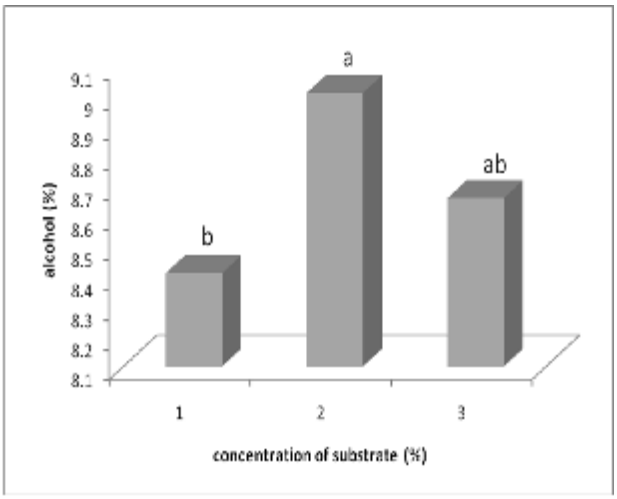
جدول 2- خلاصه نتایج جدول آنالیز واریانس تاثیر پودر هسته خرمای مرداسنگ بر میزان تولید الکل در عصاره سیب

منبع تغییرات	درجه آزادی	Mean Square	F-Value	p-value
نوع پودر هسته خرما	2	1/235	11/34	0/0035
غلظت پودر بکار رفته	2	0/545	5/01	0/034
اثرات متقابل	4	0/04	0/37	0/826
خطا	9	0/108		
کل	17			

با مقایسه میانگین پودر هسته کامل، پودر هسته بدون چربی و خاکستر پودر خرمای مرداسنگ بر روی راندمان تولید الکل مشخص شد که بین پودر هسته کامل و بدون چربی از نظر آماری تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P > 0/05$) ولی پودر هسته کامل تاثیر بیشتری داشته است (شکل 5). در بین سه نوع پودر به کار رفته کمترین راندمان تولید الکل مربوط به پودر خاکستر شده و بیشترین راندمان مربوط به پودر هسته کامل می باشد که به ترتیب برابر 8/21 درصد و 9/11 درصد بود. در مورد انواع پودر هسته خرمای کبکاب نیز نتایج مشابهی حاصل شد.



شکل 5- رابطه بین نوع پودر خرمای مرداسنگ به کار رفته و تولید الکل



شکل 6- رابطه بین غلظت های پودر خرمای مرداسنگ به کار رفته در هر سه نوع پودر و تولید الکل

طبق نتایج حاصل از مقایسه میانگین غلظت های مختلف به کار رفته از انواع پودر هسته خرمای مرداسنگ، با افزایش غلظت پودر به کار رفته در عصاره سیب از سطح 1 درصد به 2 درصد راندمان تولید الکل توسط مخمر ساکارومایسز افزایش یافت ولی با افزایش مقدار پودر به سطح 3 درصد تفاوت معنی داری در افزایش راندمان مشاهده نشد. به طوری که از نظر آماری تفاوتی بین سطوح 3 درصد با 1 و 2 درصد ملاحظه نمی گردد (شکل 6). نتایج حاصل از مقایسه میانگین های اثرات متقابل سه نوع پودر هسته بکار رفته در عصاره سیب برای فرآیند تخمیر الکلی و غلظت های مختلف آن ها، نشان داد که پودر هسته کامل و سطح 2 درصد، بهترین نتیجه را از نظر تولید الکل و در نتیجه تولید سرکه داشت به طوری که بیشترین مقدار تولید الکل در این شرایط 9/45 درصد به دست آمد. مقایسه بین این نقطه بهینه با نمونه شاهد (راندمان تولید الکل 7/6 درصد) تفاوت معنی داری را از نظر راندمان تبدیل قند به الکل توسط مخمر نشان می دهد به طوری که افزودن پودر هسته خرمای مرداسنگ مشابه خرمای کبکاب باعث افزایش کارایی تولید الکل توسط مخمر می شود.

همان طور که مشاهده می شود روند معنی داری متغیرهای فرآیند تولید الکل برای هر دو نوع خرما مشابه است ولی میزان تولید الکل مربوط به پودر هسته خرمای کبکاب بیشتر می باشد ولی این تفاوت چندان قابل ملاحظه نیست.

ناسیب و همکاران در سال 1997 اثر ضایعات خرما در تولید بیوماس ساکارومایسس سرویزیه[1] را مورد بررسی قرار دادند. برای این منظور از هیدرولیزات هسته خرما به‌عنوان منبع نیتروژن استفاده کردند و گزارش نمودند که هیدرولیزات هسته خرما در غلظت 25 گرم در لیتر مناسب است. همچنین یک گرم در لیتر روغن هسته خرما راندمان تولید بیوماس را افزایش داده است. از طرفی افزودن 0/6 گرم در لیتر خاکستر هسته خرما به‌عنوان منبع مواد معدنی می‌تواند جایگزین سولفات منیزیم و کلریدکلسیم در محیط کشت‌های سنتزی شود (16).

ابوزید و همکاران (1983) اثر استفاده از هیدرولیزات هسته خرما و آب پنیر به‌عنوان ترکیبات اصلی محیط کشت تولید اسیدسیتریک به وسیله کاندیدا لیپولیتیکا[2] را مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که تولید اسیدسیتریک پس از 96-72 ساعت تخمیر به حداکثر می‌رسد و افزایش بیوماس مخمر ارتباط نزدیکی با تولید اسیدسیتریک دارد. افزودن خاکستر هسته خرما به محیط کشت تولید اسید سیتریک را افزایش داده است. این مطلب مبین اهمیت عناصر خاصی نظیر منیزیم، آهن، کلسیم، منگنز، روی در تشکیل اسیدسیتریک توسط مخمر است (4).

1-Saccharomyces cerevisiae.

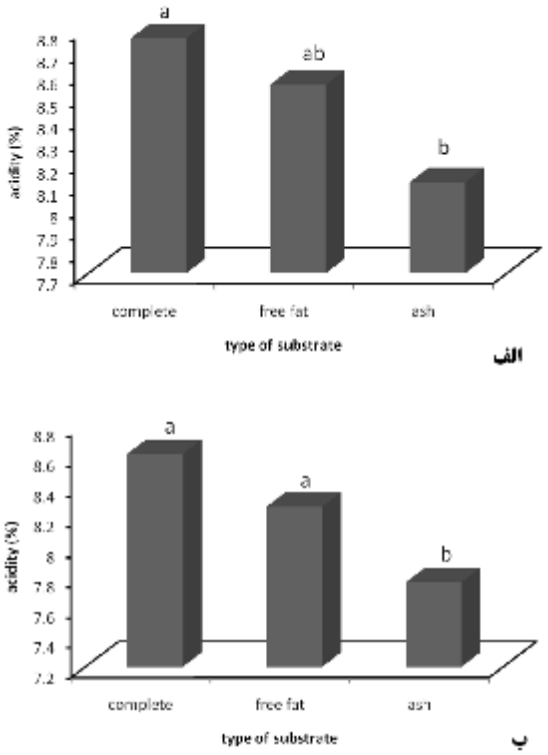
2-Candida lipolytica.

3-3- بررسی اثر متغیرهای فرآیند تولید سرکه سیب بر راندمان تولید اسید استیک

نتایج آنالیز داده های حاصل از بررسی تاثیر انواع پودر هسته خرمای کبکاب و مرداسنگ بر راندمان تولید اسید استیک نشان داد که انواع پودر هسته این دو واریته و غلظت های مختلف آن ها تاثیر زیادی بر میزان تولید اسید توسط باکتری های استیکی نداشت.

مقایسه میانگین های انواع پودر هسته بکار رفته بر فرآیند تبدیل الکل به اسید توسط باکتری های استیکی، روندی مشابه فرآیند تخمیر الکلی و تبدیل قند به الکل توسط مخمر ساکارومایسز را نشان می دهد. در فرآیند اکسیداسیون استیکی نیز بیشترین راندمان تولید اسید مربوط به پودر هسته کامل و کمترین راندمان مربوط به خاکستر هسته بود که مقادیر آن برای خرمای کبکاب به ترتیب 8/76 و 8/11 درصد و برای خرمای مرداسنگ 8/61 و 7/76 درصد بود (شکل 7). چنین روندی قابل پیش بینی است چرا که الکلی که در مرحله تخمیر الکلی توسط مخمر در شرایط بی هوازی حاصل می شود، در مرحله اکسیداسیون استیکی به عنوان سوبسترای باکتری های استیکی تحت شرایط هوازی مصرف می شود. بنابراین هر چه میزان الکل تولیدی در مرحله تخمیر الکلی بیشتر باشد تولید اسید در مرحله بعد افزایش می یابد. طبق یافته های این تحقیق بیشترین مقدار الکل در مرحله تخمیر الکلی برای هر دو نوع واریته مربوط به پودر هسته کامل بود، بنابراین بیشترین مقدار اسید استیک تولیدی نیز در این شرایط توسط باکتری های هوازی تولید شد.

مقایسه میانگین غلظت های مختلف سوبسترا نشان داد که با افزایش غلظت انواع پودر از 1 به 2 درصد در عصاره سیب، همان طور که کارایی تولید الکل توسط مخمر افزایش می یابد، تولید اسید نیز توسط باکتری های استیکی در فرآیند تولید سرکه سیب افزایش می یابد. ولی افزودن مقادیر بیشتر پودر تاثیر معنی داری بر افزایش میزان تبدیل الکل به اسید توسط باکتری های استیکی نداشت. با مقایسه اثرات متقابل بهترین شرایط از نظر تولید اسید برای هر دو نوع واریته، پودر هسته کامل و سطح 2 درصد بود که مقدار اسید تولیدی در آن برای واریته کبکاب و مرداسنگ به ترتیب برابر 9/25 و 8/95 درصد بود. راندمان تولید اسید توسط باکتری های هوازی در نمونه شاهد بدون افزودن مقادیر مختلف پودر هسته، 7/1 درصد بود که از نظر آماری به طور معنی داری کمتر از نمونه های تیمار شده می باشد.



شکل 7- تاثیرنوع پودر هسته خرمای (الف)کبکاب و (ب) مرداسنگ بر راندمان تولید اسید استیک

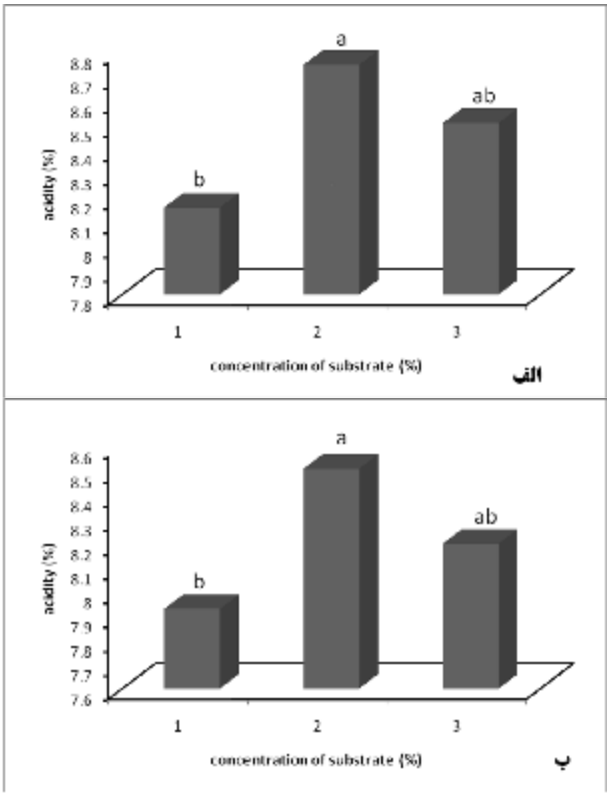
ابنر و همکاران در سال 1983 گزارش نمودند که در استاتورهای فرینگز چنانچه غلظت کل (% الکل+ % اسیدیته) بالا رود، کمبود موقتی الکل یا اکسیژن به‌طور ناگهانی سبب از بین رفتن قدرت حیات استوباکترها می شود از این رو غلظت کل مناسب برای این کار را در محدوده 11-10% پیشنهاد نمودند (9).

مطابق یافته های این پژوهش روند تاثیر انواع پودر هسته دو واریته خرمای کبکاب و مرداسنگ و مقادیر متفاوت آن ها، بر راندمان تبدیل قند به الکل در مرحله تخمیری توسط مخمر ساکارومایسز و تبدیل الکل به اسید استیک توسط باکتری های استیکی مشابه است، و تفاوت تنها در مقدار اسید تولیدی می باشد که چندان چشمگیر نمی باشد. دلیل این امر احتمالا به خاطر ترکیب شیمیایی تقریبا یکسان این دو نوع واریته از خرما و تاثیر مشابه بر روی فعالیت مخمر و باکتری باشد. ترکیب شیمیایی هسته این دو واریته مطابق جدول 3 می باشد (3).

جدول 3- مقایسه ترکیب شیمیایی هسته دو رقم خرمای مورد مطالعه

رقم خرما	ماده خشک	چربی کل	پروتئین	خاکستر	کربوهیدرات کل	فیبر محلول در شوینده اسیدی	فیبر محلول در شوینده خنثی
کبکاب	93/5±0/65	9/±0/23	5/5±0/07	1/1±0/05	83/8±0/45	5/1±2/6	65/5±2/3
مرداسنگ	93±0/45	9±0/13	5/8±0/3	1/4±0/03	83/8±0/35	46/5±2/3	69/5±2/5

(برحسب گرم در 100 گرم وزن خشک)



شکل 8- تاثیر غلظت پودر هسته خرمای (الف)کبکاب و (ب) مرداسنگ در هر سه نوع پودر، بر راندمان تولید اسید استیک

برخلاف قسمت گوشتی خرما، اطلاعات محدودی در مورد ترکیب شیمیایی و کاربردهای هسته خرما در دسترس می‌باشد. با این وجود در برخی از کشورهای تولیدکننده خرما مطالعاتی در این مورد صورت گرفته است.

النمر و همکاران (2008) کربن فعال حاصل از هسته خرما را جهت حذف فلز سمی کروم از فاضلاب مورد استفاده قرار دادند و پی بردند که، ظرفیت جذب وابستگی شدیدی به pH محیط دارد و با کاهش pH ظرفیت جذب افزایش یافته و در pH یک به حداکثر می‌رسد. علاوه بر این در بتدای فرآیند، جذب سریع بوده و پس از 180 دقیقه به تعادل می‌رسد (11).

آل فارسی و همکاران (2008) شرایط بهینه جهت استخراج ترکیبات فنولی و فیبرهای غذایی از هسته خرما را مورد بررسی قرار دادند. برای این منظور اثرات نسبت حلال به نمونه، دما، زمان استخراج و نوع حلال را مورد بررسی قرار دادند و پی بردند که استخراج دو مرحله‌ای، هر مرحله به مدت یک ساعت در دمای 45 درجه سانتی‌گراد با نسبت حلال به نمونه 60 به 1 و با استفاده از حلال های استون 50% و بوتانون بهترین شرایط است. براساس نتایج پیشنهاد نمودند که کنستانتره هسته خرما منبع ارزان قیمتی از فیبرهای غذایی و آنتی اکسیدان‌های قابل استفاده به‌عنوان ترکیبات غذایی عملگر می‌باشد (6).

بزبیز و همکاران (2004) عصاره روغنی هسته دو رقم خرما شامل دیگلت نور و آلیگ را از نظر مقدار ترکیبات فنلی، توکوفرول و استرول‌ها با هم مقایسه نمودند. این ترکیبات کم مقدار نه‌تنها در رابطه با خواص عملگرای روغن (مقاومت به اکسیداسیون، عطر، طعم و رنگ) اهمیت زیاد دارند، بلکه دارای خواص بهداشتی زیادی می‌باشند (8).

الگاسم و همکاران (1995) هسته خرما را در تغذیه گوسفندان نژاد آواسی مورد استفاده قرار دادند و پی بردند که در مقایسه با شاهد افزایش وزن در نمونه‌های تغذیه شده با هسته خرما سریعتر است و ضخامت چربی پشتی نیز بالاتر می‌باشد. آنها براساس مطالعات خود پیشنهاد کردند که احتمالاً هسته خرما دارای ترکیبات آنابولیک طبیعی هستند که شبیه اواستروژن‌ها عمل می‌کنند (10).

4- نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که که پودر هسته خرما به عنوان یک ماده مغذی مکمل باعث افزایش رشد مخمر ساکارومایسز و تسریع در تبدیل قند به الکل توسط آن، و همچنین افزایش رشد باکتری های استیکی و تولید بیشتر اسید استیک نسبت به نمونه شاهد می گردد. بنابراین شناسایی ترکیباتی از هسته خرما که اثر تحریک‌کنندگی بر روی رشد این میکروب ها و تولید

متابولیت میکروبی بیشتر در زمان کوتاهتر دارد نیازمند تحقیق بیشتری است. طبق نتایج، پودر هسته کامل نسبت به پودر هسته بدون چربی و خاکستر پودر، تاثیر بیشتری در رشد مخمر و باکتری و در نتیجه تولید الکل و اسیداستیک داشت. دلیل این امر احتمالا دارا بودن مواد مغذی موثر بیشتر برای رشد مخمر و باکتری نسبت به دو نوع پودر دیگر باشد. با افزایش غلظت پودر ها از سطح 1 به 2 درصد میزان تولید الکل در مرحله تخمیر الکلی و تولید اسید در مرحله اکسیداسیون استیکی افزایش یافت ولی افزودن بیش از این سطح تفاوت معنی داری بر راندمان متابولیت نداشت. در این تحقیق با افزودن پودر هسته کامل در سطح 2 درصد به عصاره سیب، بهترین نتیجه برای فرآیند تولید سرکه سیب به دست آمد.

5-منابع

1- استاندارد ملی ایران، 1371، چاپ هفتم، مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، شماره‌های 355 و 1394.

2- عطای صالحی، ا.، حداد خداپرست، م. ح.، لامع، ح.، حبیبی نجفی، م.، فاطمی، ح. 1389. کاربرد پودر هسته خرما به عنوان ماده مغذی مکمل در مرحله تخمیر الکلی سرکه سیب. علوم غذایی و تغذیه، سال هفتم، شماره 3، 28 تا 35.

3- عطایی صالحی ، ا. 1387. بررسی خواص فیزیکی و شیمیایی هسته خرما، پایان‌نامه دکتری رشته مهندسی کشاورزی، علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی ـ واحد علوم و تحقیقات تهران.

4- Abou – zeid, A.A., Bghlaf, A.O., khan, J.A., and Makhashin, S.S. 1983. Utilization of date seeds and cheese whey in production of citric acid by Candida lypolylica. *Agric. Wastes*. 8,131-134.

5- Al – Farsi, M., Alasalvar, C., Al – abid, M., Al – shoaidy, K., Al – Amry, M, .and AL - Rawahy, F. 2007. Compositional and Functional characteristics of date, syrups and their by products. *Food Chemistry*. 104 (3): 943 – 947.

6- Al – Farsi, M.A, .and Lee, C.Y. 2008. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*. 108 : 977 – 985.

7- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis (14th Ed). Washington Dc: *Association of Official Analytical Chemists.*

8- Besbes et al. 2004 .Quality characteristics and oxidative stability of date seed during storage. *Food Science and Technology International*. 10(5). 333 – 338.

9- Ebner, H., and Follmann, H. 1983.Biotechnology. Weinheim. 3:390-407.

10- Elgasim, E.A, et al. 1995. Possible hormonal activity of date pits and flesh fed to animals. Food Chemistry .52 (2) .149 – 152.

11- Elnemr, Al. 2008. Treatment of wastewater containing toxic chromium using new activated carbon developed from date palm seed. j of Hazardous material .1 (52):263 – 275.

12- Frazier, W.C., and Westhoft, D.C. 1988.Food Microbiology. 4th Ed. MC Grow-Hiu Co. Newyork.PP345-360.

13- Kubota, T., Kato, H., Tanijiri, S., and Matsuda, H. 1988. Process for production vinegar. US patent 4770881.

14- Lea, A.G.H. 1989. Cider vinegar. In Processed Apple Products (Ed) Dowing, O.L.AVI, New York. PP 279-301.

15- Lea, A.G.H. 1995. Cider making. *Fruit Processing*. 5(9) 281-286

16- Nacib, N., Nacib.A.and Boudrant, J. 1997. Use of waste products in the fermentative formation of baker's yeast biomass by *Saccharomyces cervisiae*. *Bioresource Technology*. 60, 67-71.

17- Nacib, N., Ghoul, M., Larous, L., Nacib. A., Adimi.L.,Remmal,M., and Boudrant,J.1999. Use of date products in production of the thermophilic dairy starter strain Streptococcus thermophilus. *Bioresource Technology*, 67,291-295.

18- Plessi, M. 2003.Vinegar. In Encyclopedia of food Science and nutrition leds B Caballero, L.C.Trugo and P.M. Finge. Oxford. Academic press. PP. 5996-6003.

19- Robert, W.H.2006. Microbiology and technology of fermented foods. Blackwell Publishing.PP.397-417.

20- Scott. J. A. and Swaffield, C.H. 1998. Observation on Influence of temperature, dissolved oxygen and juice source on stored alcoholic cider flavor development. *Food Biotechnology*. 12(182), 13-26.