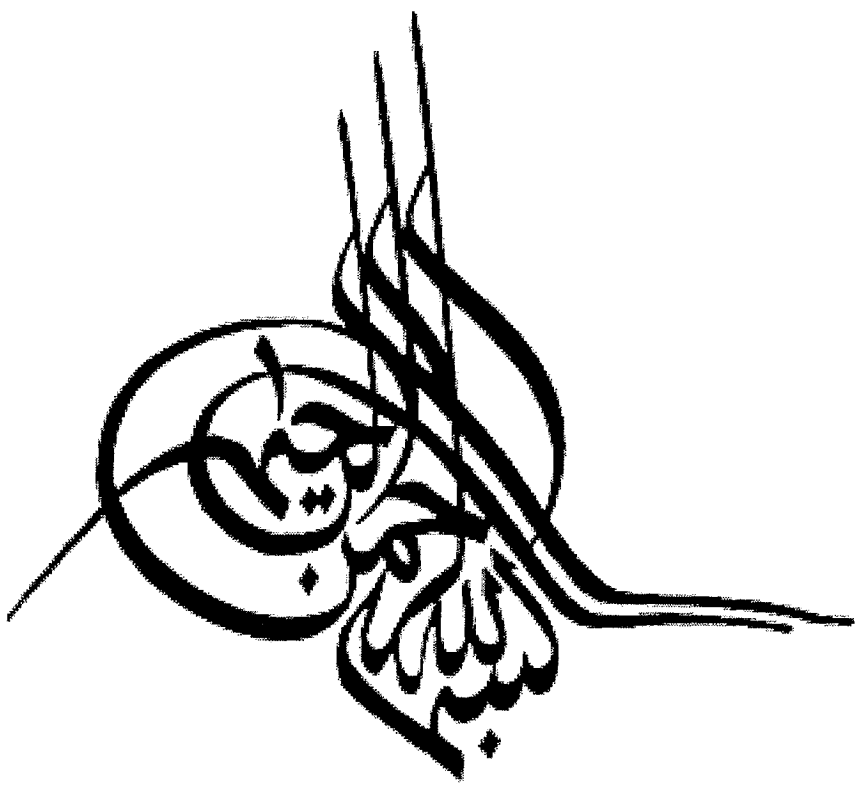

١٢٩٨٤٧

دانشگاه اصفهان

دانشکده‌ی فنی و مهندسی

گروه مهندسی شیمی

پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی مهندسی شیمی

بهینه سازی پارامترهای موثر بر خشک کردن ساکارومایسیس سرویزیه در خشک کن پاششی

استاد راهنما:

دکتر محمد صادق حاتمی پور

استاد مشاور:

مهندس احمد گودرزی

پژوهشگر:

محسن آهی

مهرماه ۱۳۸۸

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
ثبت شد

۱۳۸۸/۱۰/۲۷

۱۲۹۸۴۷

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکـارات
و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامـه
متعلق به دانشگاه اصفهان است.

شیوه نگارش پایان نامه
رعایت شده است
تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان

دانشگاه اصفهان

دانشکده فنی و مهندسی

گروه مهندسی شیمی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی مهندسی شیمی آقای محسن آهی

تحت عنوان

بهینه سازی پارامترهای موثر در خشک کردن ساکارومایسیس در خشک کن پاششی

در تاریخ ۸۸/۷/۲۷ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای اول پایان نامه دکتر محمدصادق حاتمی پور با مرتبه ی علمی دانشیار امضا

۲- استاد مشاور پایان نامه مهندس احمد گودرزی امضا

۳- استاد داور داخل گروه دکتر مسعود بهشتی با مرتبه ی علمی استادیار امضا

۴- استاد داور خارج از گروه دکتر مرتضی خان احمدی-با-مرتبه ی علمی استادیار امضا

امضای مدیر گروه

اکنون که فصلی مهم و مؤثر از دفتر زندگیم به پایان می‌رسد بر خود لازم می‌دانم تشکر و قدردانی خود را از تمام کسانی که مرا در طول این مرحله یاری کرده‌اند، ابراز دارم. در ابتدا از پدر گرانقدرم که تکیه‌گاه محکمی برای من در تمام مراحل زندگیم بوده‌اند و مادر مهربانم که همواره غریق دریای رحمتش بوده‌ام، از صمیم قلب سپاسگزارم. از استاد راهنمای عالیقدرم جناب آقای دکتر محمد صادق حاتمی پور و همچنین استاد مشاور فرهیخته ام آقای مهندس احمد گودرزی کمال تشکر را دارم که در طول انجام این پایان‌نامه بنده را از نظرات خود محروم نکردند.

در ادامه از تمام عزیزانی که مرا در طول تهیه این رساله یاری کردند سپاس‌گزارم که در این میان باید از جناب آقای مهندس محمد علی گرجی و جناب آقای مهندس عبد العظیم رحیمی صمیمانه قدردانی کنم.

به امید آنکه در این فرصت کوتاه یادگیری توانسته باشم سرمستی و نشاط برآمده از آموختن را در خود پایدار و استوار گردانم و باشد که اندیشه‌هایمان هرگز از شراب ناب آموختن تهی نگردد.

تقدیم به:

پدرم اسوه صبر و شکیبایی

مادرم اسوه فداکاری و دلسوزی

چکیده:

یکی از محصولات میکروبی که کاربرد های زیادی در بسیاری از صنایع بیوتکنولوژی و صنایع غذایی دارد، مخمر ساکارومایسس سرویزیه است که به عنوان مخمر نان هم شناخته می شود. این محصول قبل از بسته بندی باید خشک شود. در این تحقیق شرایط عملیاتی که بیشترین فعالیت را برای محصول پس از خشک کردن ایجاد کند، بدست آمده است. آزمایش های مقدماتی نشان می دهد که در خشک کردن کرم مخمر به صورت خالص و بدون افزودنی مخمر به جداره خشک کن و جداره سیکلون می چسبد و نمی توان مخمر را بدون افزودن مواد افزودنی یا محافظت کننده خشک کرد. در این تحقیق جهت خشک کردن با استفاده از روش آماری تاگوچی، آزمایش ها در دو مرحله انجام شد. در طراحی آزمایش های مرحله اول فاکتور هایی که تصور می شد بر فعالیت مخمر تاثیر دارند غربال سازی شده و در مرحله بعدی با در نظر گرفتن فاکتور های مهم تر و سطوح مناسب تر شرایط خشک کن پاششی بهینه شد. شرایط بهینه برای خشک کردن مخمر نان در خشک کن پاششی دمای هوای ورودی $^{\circ}C$ ۱۴۵، دبی خوراک ml/h ۱۵۲ و ٪۲۰ نشاسته به دست آمد. در ادامه کشت مخمر در فرمانتور آزمایشگاهی به صورت پیوسته و نیمه پیوسته انجام گرفت. نتایج نشان می دهد که در رشد مخمر در تخمیر ناپیوسته، بالاترین مقدار فعالیت پس از خشک کردن در فاز سکون حاصل می شود. همچنین طی تخمیر مخمر در یک فرآیند نیمه پیوسته با شرایط صنعتی (خوراک دهی ویژه برای منبع کربن نیتروژن و فسفر) فعالیت تخمیری مخمر در مقایسه با شرایط ناپیوسته مقدار بالاتری دارد.

واژه‌های کلیدی: خشک کردن پاششی، مخمر، بهینه سازی، *ساکارومایسیس سرویزیه*، زیست ماندگاری، طراحی آزمایش ها

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه ..... ح

فصل اول: مروری بر مطالعات قبلی

فصل دوم: تئوری مربوط به تولید خمیرمایه

۲-۱- خمیرمایه و توضیحی کلی درباره تولید تجاری آن ۵

۲-۱-۱- سیستم‌های فرمانتوری و تجهیزات انتقال اکسیژن ۶

۲-۱-۲- مواد خام مورد نیاز ۸

۲-۱-۳- مواد مغذی مورد نیاز ۹

۲-۱-۴- تخمیر چند مرحله ای ۱۰

۲-۱-۵- مرحله کشت در فلاسک ۱۰

۲-۱-۶- مرحله کشت خالص ۱۱

۲-۱-۷- تخمیر نیمه پیوسته ۱۲

۲-۱-۸- فیلتراسیون ۱۳

۲-۱-۹- فرآیند خشک کردن ۱۳

۲-۱-۱۰- خشک کن های بستر سیالی ۱۴

۲-۱-۱۱- خشک کن پاششی ۱۴

۲-۲- مبانی خشک کن های پاششی ۱۴

۲-۲-۱- کاربردهای روزمره ۱۵

۲-۲-۲- مراحل خشک کن پاششی ۱۵

۲-۲-۳- انتخاب اتمایزر ۱۷

۲-۲-۴- تماس هوا –خوراک ۱۷

۲-۳- میکروبیولوژی مخمر ۲۱

۲-۳-۱- مفهوم آنابیوسیس ۲۱

۲-۳-۲- آنابیوسیس در طبیعت ۲۲

۲-۳-۳- مقاومت میکروارگانیسم های خشک شده به فاکتور های شدید محیطی ۲۳

۲-۳-۴- آب و انتقال آن در سلول مخمر طی خشک شدن ۲۳

۲-۳-۵- مقاومت مخمر ها به خشک شدن ۲۴

عنوان **صفحه**

۲-۳-۶- اثر شرایط محیط کشت بر زیست پذیری مخمر پس از خشک شدن..... ۲۴

۲-۳-۷- تغییرات ساختاری بر روی سلول مخمر در اثر خشک کردن..... ۲۵

فصل سوم: مواد و روش ها

۳-۱- مواد مورد استفاده..... ۲۸

۳-۱-۱- محیط کشت آزمایشگاهی استفاده شده در فرمانتور..... ۲۸

۳-۱-۲- محیط کشت برای شمارش در پلیت در یک لیتر (مرک آلمان)..... ۲۸

۳-۲- دستگاه های مورد استفاده..... ۲۹

۳-۳- روش های مورد استفاده..... ۳۰

۳-۳-۱- روش طراحی آزمایشات..... ۳۰

۳-۳-۲- روش شمارش کلنی ها..... ۳۳

۳-۳-۳- روش تعیین مقدار قند (روش DNS)..... ۳۴

۳-۳-۴- روش اندازه گیری الکل..... ۳۵

۳-۳-۵- روش اندازه گیری فعالیت تخمیری..... ۳۷

۳-۳-۶- روش آماده سازی سوبسترا (ملاس)..... ۳۸

۳-۳-۷- روش تهیه مایه تلقیح..... ۳۸

۳-۳-۸- روش خشک کردن نمونه ها..... ۳۸

۳-۳-۹- روش متیلن بلو برای شمارش سلولی..... ۳۹

۳-۴- بررسی خوراک دهی بر میزان مخمر تولیدی و فعالیت تخمیری..... ۴۱

۳-۴-۱- شرایط کشت در فرمانتور آزمایشگاهی..... ۴۳

۳-۴-۲- روش تعیین وزن خشک سلولی..... ۴۳

فصل چهارم: نتایج

۴-۱- مقایسه روش های تعیین کیفیت مخمر نان..... ۴۴

۴-۲- آزمایش های مقدماتی برای تعیین شرایط کاری خشک کن..... ۴۶

۴-۳- طراحی آزمایش ها – غربال سازی فاکتور ها..... ۴۶

۴-۳-۱- فاکتورها و سطح فاکتورهای انتخابی..... ۴۸

۴-۳-۲- آنالیز واریانس برای غربال سازی فاکتورها..... ۴۹

عنوان | صفحه

۴-۴- طراحی آزمایش ها - بهینه سازی فاکتور های مهم ۵۳
۴-۴-۱- فاکتورها و سطح فاکتورهای انتخابی ۵۳
۴-۴-۲- آنالیز واریانس برای بهینه سازی فاکتور های مهم ۵۳
۴-۵- منحنی استاندارد اندازه گیری قند های احیاء کننده ۵۷
۴-۶- منحنی استاندارد اندازه گیری الکل ۵۸
۴-۷- کشت ناپیوسته (بچ) ۵۸
۴-۷-۱- منحنی رشد در تخمیر ناپیوسته ۵۸
۴-۷-۲- منحنی تغییرات الکل با زمان در کشت ناپیوسته ۵۹
۴-۷-۳- منحنی مصرف سوبسترا با زمان در کشت ناپیوسته ۶۰
۴-۸- تعیین مرحله مناسب برای تعیین فاز خشک کردن ۶۱
۴-۹- خوراک دهی فد بچ ۶۲
۴-۱۰-کشت فد بچ ۶۲
۴-۱۱-کشت فد بچ مطابق با شرایط صنعتی ۶۳
۴-۱۱-۱- تهیه محلول ملاس برای کشت خالص ۶۳
۴-۱۱-۲- تخمیر کشت خالص ۶۳
۴-۱۱-۳- تهیه محلول ملاس برای کشت فرمانتور ۶۳
۴-۱۱-۴- تخمیر در فرمانتور ۶۳

فصل پنجم: نتیجه گیری و پیشنهادات

۵-۱- نتیجه گیری ۶۵
۵-۲- پیشنهادات ۶۷

منابع و مآخذ ۶۸

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۲-۱ فرآیند متداول تولید خمیرمایه با خشک کن بستر سیالی..... ۶

شکل ۲-۲ خشک کن پاششی با جریان همسو..... ۱۷

شکل ۲-۳ خشک کن پاششی با جریان نا همسو..... ۱۸

شکل ۲-۴ خشک کن پاششی با جریان آمیخته..... ۱۹

شکل ۲-۵ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سلول های ساکارومایسس سرویزیه قبل از خشک شدن..... ۲۶

شکل ۲-۶ تصویر میکروسکوپ الکترونی روبشی از سلول های ساکارومایسس سرویزیه پس از خشک کردن..... ۲۶

شکل ۳-۱ طریقه اتصال وسایل شیشه ای اندازه گیری الکل..... ۳۷

شکل ۳-۲ طرح به کار گرفته شده برای اندازه گیری فعالیت تخمیری..... ۳۸

شکل ۳-۳ شمای خشک کن پاششی استفاده شده در این مطالعه..... ۳۹

شکل ۳-۴ طرح کلی یک لام توما..... ۴۰

شکل ۳-۵ ابعاد لام توما..... ۴۰

شکل ۳-۶ روش اول (سمت چپ) و روش دوم (سمت راست) برای شمارش سلولی..... ۴۱

شکل ۳-۷ فرمانتور استفاده شده در این تحقیق..... ۴۲

شکل ۴-۱ مخمر نان که از یک پلیت نمونه گیری شده و با روش متیلن بلو در زیر میکروسکوپ دیده می شود ۴۵

شکل ۴-۲ مخمر نان تجاری با روش متیلن بلو در زیر میکروسکوپ دیده می شود..... ۴۵

شکل ۴-۳ مخمر نان که با خشک کن پاششی و با روش متیلن بلو در زیر میکروسکوپ دیده می شود..... ۴۵

شکل ۴-۴ اثر فاکتور های مختلف بر مقدار فعالیت مخمر در مرحله غربالسازی فاکتورها..... ۵۱

شکل ۴-۵ نشاسته و مالتودکسترین در سطح مناسب غربال سازی برای ٪۵ و٪۱۰ و ٪۱۵ در محلول خوراک... ۵۲

شکل ۴-۶ اثر فاکتور های مختلف بر مقدار فعالیت مخمر در مرحله اصلی..... ۵۵

شکل ۴-۷ منحنی استاندارد تعیین قندهای احیاءکننده بر حسب گرم در لیتر گلوکز..... ۵۷

شکل ۴-۸ منحنی استاندارد تعیین الکل..... ۵۸

شکل ۴-۹ منحنی رشد مخمر در کشت ناپیوسته برحسب وزن خشک سلول..... ۵۹

شکل ۴-۱۰ منحنی درصد الکل در کشت ناپیوسته..... ۵۹

شکل ۴-۱۱ تغییرات بریکس با گذشت زمان در کشت ناپیوسته..... ۶۰

شکل ۴-۱۲ تغییرات قند احیا کننده بر حسب زمان در کشت ناپیوسته..... ۶۱

شکل ۴-۱۳ پروفایل خوراک دهی، وزن خشک سلولی و بریکس در کشت فد بچ..... ۶۲

شکل ۴-۱۴ پروفایل خوراک دهی، وزن خشک سلولی و بریکس در کشت فد بچ با شرایط صنعتی..... ۶۴

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱ طریقه تهیه محلول های گلوکز با غلظت های مختلف ۳۴

جدول ۴-۱ شرایط مختلف برای تعیین شرایط کاری مناسب برای خشک کردن ۴۷

جدول ۴-۲ سطوح و فاکتور های انتخابی در غربال سازی فاکتورها ۴۸

جدول ۴-۳ طراحی آزمایش ها بر مبنای سطوح کد بندی شده ۵۰

جدول ۴-۴ آنالیز واریانس برای آزمایش غربال سازی فاکتور ها برای پاسخ حجم گاز ۵۱

جدول ۴-۵ شرایط و سطوح پیشنهادی برای خشک کردن در مرحله غربال سازی ۵۲

جدول ۴-۶ سطوح و فاکتور های انتخابی در بهینه سازی نهایی فاکتور های مهم ۵۳

جدول ۴-۷ طراحی آزمایش ها بر مبنای سطوح کد بندی شده ۵۴

جدول ۴-۸ آنالیز واریانس بر حسب S/N برای بهینه سازی نهایی فاکتور های مهم برای پاسخ حجم گاز ۵۶

جدول ۴-۹ تایید شرایط بهینه برای خشک کردن در بهینه سازی نهایی فاکتور های مهم ۵۷

جدول ۴-۱۰ بررسی فاز رشد بر میزان گاز تولیدی ۶۱

جدول ۴-۱۱ خوراک دهی منبع نیتروژن و فسفر به فرمانتور ۶۴

مقدمه

خشک کن های پاششی برای خشک کردن طیف وسیعی از محصولات زیست فناوری و صنایع غذایی و دارویی، شیمیایی و معدنی در مقیاس صنعتی به کار می رود و جزء یکی از فرآیند های پایین دستی صنایع زیست فناوری محسوب می شوند. در این فرآیند با استفاده از حرارت مواد فرار موجود (معمولا آب) در محصول حذف می گردد. عمومی ترین دلیل خشک کردن فرآورده ها این است که برخی از فرآورده ها به دلیل ماهیت شیمیایی یا فیزیکی به صورت محلول دچار تخریب پذیری می شوند. دلیل دیگر خشک کردن سهولت نگهداری و نقل و انتقال فرآورده هاست که می توان با خشک کردن از آلودگی آنها نیز جلوگیری کرد (Harrison, 2002).

از آنجا که در خشک کن های پاششی معمولا زمان خشک کردن یا زمان ماند بسیار کم است، برای مواردی که محصول مورد نظر نسبت به گرما حساسیت بالایی دارد، به خصوص مواد دارویی و مواد غذایی کاربرد عمده ای دارد(Labuza et al., 1970).

مصرف مخمر در پختن نان و ساختن آب جو سابقه بسیار درازی دارد. مدارک موجود نشان می دهد که مصری ها با پختن نان کاملا آشنایی داشته اند. گرچه از تاریخ دقیق پخت نان اطلاعی در دست نیست ولی قدیمی ترین نان در سوئیس پیدا شده است که مربوط به ۵ هزار سال پیش است. در خصوص کشف خمیرمایه و استفاده از آن در تهیه خمیر نان روایات متعددی نقل شده است ولی آنچه مسلم است، کشف خمیرمایه و عمل تخمیر به طور تصادفی اتفاق افتاده است. در اروپای قرون وسطی، نانوایان از مخمر آب جو به عنوان خمیرمایه استفاده می کردند، برای این کار رازک، آب و کمی آرد ذرت را آسیاب می کردند و با مقداری مالت به کار می بردند. این عمل مبنایی برای تخمیر محسوب می شود. در قرون هفدهم و هجدهم میلادی عمل تخمیر با استفاده از معلومات علمی وعملی شروع شد و با استفاده از مخمر و زدن خمیر، نانی مطبوع و با کیفیت مطلوب پخته می شد. تا سال ۱۸۵۹، از ماهیت تخمیر آگاهی کاملی در دست نبود تا اینکه لویی پاستور دانشمند معروف فرانسوی پس از تحقیقات فراوان ثابت کرد که عمل تخمیر در واقع تبدیل مواد قندی به دی اکسید کربن به وسیله میکروارگانیسم هاست (Bailey and Ollis, 1986, Pandey, 2004). صنعت تولید مخمر در ایالات متحده، در سال ۱۸۶۸ به وسیله فلشمن[1] شروع شد (Klieger, 2004) که با استفاده از روش های اصلاح شده و همچنین دانش بیوشیمی در زمینه تخمیر منجر به پیشرفت و توسعه های فراوانی در این زمینه شد. به عنوان مثال عمل سانتریفوژ کردن برای جداسازی مخمر از محیط تخمیر کشف شد که یکی از بزرگترین فرآیند ها در تولید مخمر بود. تا قبل از جنگ جهانی اول منبع تهیه مخمر، غلات بود اما در خلال جنگ و کمبود غله تحقیقات برای پیدا کردن منابع جدید برای تولید مخمر آغاز شد. وهل[2] و هیداک[3] در یک واحد تحقیقاتی در برلین موفق شدند با افزودن آمونیاک و املاح آمونیاکی (به عنوان تنها منبع ازت برای مخمر) به ملاس از آن به عنوان ماده اولیه صنعت مخمر سازی استفاده کنند که هنوز هم استفاده می شود (Owen, 1931). در حال حاضر میزان تولید جهانی اصلی ترین محصولاتی که به

---

1 Fleischmann
2 Wohl
3 Hayduck

واسطه مخمر تولید می شود به صورت ۶۰ میلیون تن آب جو، ۳۰ میلیون تن شراب، ۸۰۰ هزار تن پروتئین تک یاخته، ۶۰۰ هزار تن مخمر نانوایی و ۳۱ هزار میلیون لیتر بیواتانل در سال می باشد. از آنجایی که مخمر ساکارومایسس سرویزیه یکی از معروفترین الگوهای علمی و میکروارگانیسم های تجارتی است، می توان پیش بینی کرد که رشد صنایع مبتنی بر زیست فناوری با حضور این مخمر در سال های آینده همچنان ادامه یابد (مبینی، ۱۳۸۷).

آرد گندم حاوی پروتئینی به نام گلوتن می‌باشد که هنگام ترکیب با آب یک شبکه پروتئینی ایجاد می‌نماید. در پاره ای از موارد در کشور ما جهت متخلخل کردن نان (در پخت نان‌های سنتی) از جوش شیرین استفاده می‌شود. جوش شیرین همان بی‌کربنات سدیم ($NaHCO_3$) می‌باشد که هنگام پخت نان تجزیه شده و گاز دی‌اکسیدکربن (CO_2) تولید می‌نماید که در لابلای شبکه پروتئینی خمیر گیر افتاده و سبب متخلخل شدن نان می‌شود. در عین حال بی‌کربنات سدیم پس از تجزیه، قلیا ایجاد می‌کند که می‌تواند سبب خنثی کردن بخشی از اسید معده شده و در امر گوارش غذا در معده انسان اختلال ایجاد نماید. حال آنکه خمیرمایه در واقع توده سلول‌های مخمر بوده که زنده هستند و مواد نشاسته‌ای نان را به مواد قندی ساده‌تر تبدیل می‌کنند و در نتیجه گاز دی‌اکسیدکربن (CO_2) تولید می‌نمایند که سبب تخلخل خمیر و نان می‌شود. خمیرمایه علاوه بر این کار سبب بهبود ساختمان و ترکیب خمیر، بهبود طعم (با ایجاد آلدئید و اسیدهای آلی)، افزایش مواد قندی ساده، اسیدهای آمینه (بویژه لیزین)، ویتامین B و از همه مهمتر تولید آنزیم فیتاز و هیدرولیز ماده مضر اسید فیتیک می‌شود (Servi et al., 2008). اسید فیتیک می‌تواند با یون‌های کلسیم، آهن و روی ترکیب شده و مانع از جذب آنها در سیستم گوارش گردد. عوارض اصلی این عدم جذب به ترتیب شامل پوکی استخوان، کم خونی و ریزش موی سر و اختلالات جنسی می‌باشد (شرکت خمیرمایه و الکل، توسعه نیشکر و صنایع جانبی).

همان طور که گفته شد یکی از محصولات زیست فناوری که کاربرد های زیادی در بسیاری از صنایع زیست فناوری و صنایع غذایی دارد، مخمر ساکارومایسیس سرویزیه است که به عنوان مخمر نان هم شناخته می شود. این مخمر قبل از بسته بندی باید خشک شود. اغلب برای خشک کردن این مخمر از خشک کن بستر سیال با تجهیزات گسترده استفاده می شود. برای خشک کردن مخمر در خشک کن های بستر سیال لازم است که خروجی فرمانتور پس از چند مرحله سانتریفیوژ، تغلیظ و عملیات فیلتراسیون به صورت کیک و سپس رشته ای در آید تا بتواند در خشک کن بستر سیال خشک شود. اگر بتوان عمل خشک کردن مخمر را در خشک کن پاششی انجام داد عملا تجهیزات کمتری نیاز بوده و فرآیند تولید مخمر ساده تر قابل انجام خواهد بود. اگر چه مصرف انرژی بالا در خشک کن پاششی استفاده از آن را محدود می سازد ولی برای بررسی اقتصادی طرح، این تحقیق تعیین کننده استفاده یا عدم استفاده از این روش خواهد بود. اما مسئله مهم در خشک کردن مخمر زنده ماندن و داشتن فعالیت آن است. مخمری که به عنوان محصول نهایی و خشک شده ارائه می شود باید دارای فعالیت، و زیست ماندگاری مناسب باشد. از سوی دیگر حرارتی که برای خشک کردن به کار می رود باعث از بین رفتن مخمر می شود، بنابراین روش خشک کردن و شرایط خشک کردن اهمیت زیادی دارد. با بهینه سازی پارامتر های موثر و بدست آوردن شرایط عملیاتی مناسب و بهینه می توان محصولی با بیشترین زیست ماندگاری را بدست آورد. پارامترهای عملیاتی که در خشک کردن دخالت دارد دمای هوا ورودی، دمای خروجی هوا، نرخ خوراک دهی و دبی هوای خشک کن است.

در این تحقیق در فصل اول، مطالعات قبلی در رابطه با خشک کردن مخمر و تخمیر هوازی مخمر به منظور

تولید توده زیستی مرور شده است. در فصل دوم تئوری لازم برای خشک کردن مخمر مشتمل بر توضیح مختصری از تولید تجاری خمیر مایه و اصول خشک کن های پاششی و مختصری نیز در رابطه با میکروبیولوژی مخمر و بررسی آن برای خشک کردن به طور مختصر بحث شده است. در فصل سوم مواد و روش های مورد نیاز برای انجام این تحقیق آورده شده است. در فصل چهارم، نتایج این تحقیق مشتمل بر بهینه سازی شرایط خشک کن پاششی آزمایشگاهی و تخمیر مخمر در کشت ناپیوسته (بچ) و نیمه پیوسته (فدبچ) بررسی شده است. در فصل پنجم نتایج این تحقیق به صورت خلاصه ارائه شده است.

فصل اول

مروری بر مطالعات قبلی

طی تحقیقی که در سال ۱۹۷۰ توسط Labuza انجام شد، پارامتر های موثر بر روی تولید پروتئین تک یاخته در طی خشک کردن پاششی بررسی شده است. در اینجا هدف تولید سلول های مخمر با کمترین زیست ماندگاری بوده است و شرایطی که کمترین زیست ماندگاری حاصل شده، به عنوان بهترین شرایط در نظر گرفته شده است. پارامتر های مورد بررسی در این تحقیق، دمای ورودی، دمای خروجی، شدت خوراک، و میزان رطوبت محصول بوده و اثر این پارامتر ها بر روی زیست ماندگاری مخمر ساکارومایسس سرویزیه بررسی شده است. میزان سلول های زنده با افزایش دمای خروجی کاهش می یابند و اثر دمای ورودی در این فرآیند ناچیز گزارش شده است. علاوه بر این با استفاده از رابطه آرنیوس زیست ماندگاری را با دمای خروجی مرتبط کرده و انرژی فعال سازی را برای این آزمایش محاسبه کرده اند(Labuza et al., 1970).

در سال ۱۹۹۶ Alpas و همکاران خشک کردن و سینتیک مرگ مخمر نانوایی در یک خشک کن تونلی در مقیاس آزمایشگاهی را بررسی کرده اند. فرآیند با کامپیوتر کنترل شده و جریان هوا بین ۳-۲ متر بر ثانیه و دمای هوا بین ۶۰-۴۰ درجه سانتیگراد گزارش شده است. در این تحقیق یک معادله مرتبه اول، مرگ مخمرها را توصیف می کند. برای محاسبه اثر دما بر روی مرگ از معادله آرنیوس برای تخمین پارامتر های سینتیک مرگ مخمر بهره گیری شده است(Alpas et al., 1996).

در سال ۱۹۹۶ win و همکاران رشد مخمر ساکارومایسس سرویزیه در کشت ناپیوسته و نیمه پیوسته با

استفاده از سوبسترای ملاس و شربت گلوکز که از نشاسته کاساوا بدست آمده را بررسی کرده اند. در این تحقیق ابتدا دما و pH برای این دو سوبسترا بهینه شده است و کشت ناپیوسته برای هر سوبسترا جداگانه انجام شده و برای کشت ناپیوسته از الگوریتم خاصی برای خوراک دهی استفاده کرده اند. پارامتر های سنتیک رشد سلولی برای هر سوبسترا در کشت نیمه پیوسته محاسبه شده است و نتایج نشان می دهد شربت گلوکز بازده بالاتری را نسبت به ملاس برای رشد سلولی نشان می دهد.(Win et al., 1996).

در سال ۱۹۹۷ Truong-Meyer مقاومت گرمایی دوگونه میکروبی مخمری در غلظت های بالای قند را بررسی کرده است. مطالعات نشان می دهد که هر مخمر دارای حساسیت گرمایی خاصی است. در این مطالعه زنده ماندن مخمر ها پس از حرارت دهی به صورت نمودارهایی نشان داده شده است. کاهش در تعداد مخمر ها همیشه به صورت نمایی نیست و نمودار های زنده ماندن، معمولا فاز تاخیری را به همراه نمودار نمایی و سهموی در زمانهای اولیه حرارت دهی نشان می دهد و معادلات دو پارامتری برای زنده ماندن و تعداد مخمر ها بدست آمده است(Truong-Meyer et al., 1997).

Attfield در سال ۱۹۹۷ اثر شوک هایی که مخمر در طی فرآیند تولید تا به مصرف رسیدن آن متحمل می شود را گزارش کرده است. طی این مقاله مروری، عوامل مختلفی نظیر دمای بالا، اکسیداسیون، فشار اسمزی بالا، آب گیری و خیساندن مجدد، منجمد کردن و گرم کردن به عنوان عوامل موثر در ایجاد شوک در مخمر نان دانسته شده است. اثرات شوک های مختلف بر روی عوامل ژنتیکی، غشای سلولی و متابولیسم سلولی بررسی شده است. توصیه شده است تا با روش های مهندسی ژنتیک، گونه هایی از مخمر ساکارومایسس را ایجاد کرد که در برابر شوک های فرآیند مقاوم باشند و علاوه بر این تولید دهی مناسبی داشته باشند(Alpas et al., 1996).

وقتی که مخمر ساکارومایسیس سرویزیه در معرض افزایش دما یا افزایش فشار اسمزی قرار می گیرد، زیست ماندگاری آن کاهش می یابد. در سال ۲۰۰۰ Beney و همکاران نشان داده اند که افزایش سریع در دما یا افزایش سریع در فشار اسمزی در محدوده ای از تغییرات این متغیر ها باعث افزایش مرگ مخمر می شود. در این تحقیق برای دما و فشار اسمزی، دو فاز سینتیکی در نظر گرفته شده است که در یک مرحله افزایش دما یا فشار اسمزی تاثیر زیادی بر روی ماندگاری مخمر ندارد و از یک نقطه بحرانی به بعد تغییرات سریع باعث افزایش مرگ مخمر می شود. در این تحقیق پیشنهاد شده که نقطه بحرانی برای تغییرات دمایی و فشاری را باید برای اعمال این تغییرات در نظر گرفت(Beney et al., 2000).

Luna-Solano و همکاران در سال ۲۰۰۰ خشک کردن مخمر آب جو را در یک خشک کن پاششی بررسی کرده اند. در این تحقیق زیست ماندگاری مخمر آب جو را با استفاده از حفاظت کننده های نشاسته و

مالتودکسترین بهبود بخشیدند. با استفاده از طراحی آزمایش ها مقدار بهینه ای برای فاکتور های موثر در خشک کردن بدست آمده است. فاکتور های مهم در این طراحی آزمایش، میزان مالتودکسترین، میزان نشاسته، دمای خروجی، سرعت روتور و غلظت های مالتودکسترین و نشاسته در نظر گرفته شده است نتایج نشان می دهد که هر چه دور اتمایزر بیشتر و میزان نشاسته و مالتودکسترین بالاتر باشد میزان زنده ماندن سلول ها بیشتر است(Luna-Solano et al., 2000).

زنده ماندن و فعالیت حیاتی باکتری بیجرینکیا[1] که در مالتودکسترین بوسیله خشک کردن پاششی تحت شرایط مختلف خشک کردن کپسوله[2] شده و مراحل نگهداری آن توسط Boza و همکاران در سال ۲۰۰۴ مورد بررسی قرار گرفته است. فعالیت حیاتی این باکتری طی خشک کردن پاششی در دمای پایین هوای خروجی و غلظت مواد جامد کمتر در محلول خوراک، بالاتر است. با افزایش دمای هوای خروجی یا افزایش محتوای مواد جامد، میزان رطوبت پودر خشک شده کاهش می یابد. کاهش تدریجی ماندگاری باکتری طی مدت نگهداری در همه آزمایشات مطالعه شد، اگر چه آزمایشاتی که در دمای پایین تری از هوای خروجی و محتوای مواد جامد کمتر انجام گرفته ماندگاری و فعالیت حیاتی بالاتری را نشان می دهند(Boza et al., 2004).

در سال ۲۰۰۵ مدل سازی ریاضی برای کمینه کردن قیمت مخمر خشک شده در خشک کن پاششی توسط Luna-Solano و همکاران انجام شده است. مدل سازی ریاضی به همراه مدلی که از داده های تجربی با روش سطح پاسخ (RSM) بدست آمده، انجام شده است. شرایط بهینه برای سرعت روتور، دمای خروجی هوا و دبی مناسب خوراک، با استفاده از داده های تجربی و مدل RSM بدست آمده است. معادلاتی برای مدل سازی و شبیه سازی خشک کن پاششی ارائه شده است که شامل معادلات انتقال جرم و حرارت است(Luna-Solano et al., 2005).

یک مقاله مروری که توسط Morgan و همکارانش در سال ۲۰۰۶ ارائه شده، مزایا و معایب روش های مختلف خشک کردن و فازهای رشد سلولی، حساسیت سلول های میکروبی، روشهای مختلف رطوب دهی مجدد وشرایط نگهداری میکروارگانیزم ها را مرور نموده است (Morgan et al., 2006).

Ameri و Maa در سال ۲۰۰۶ جنبه های مختلفی از ساز و کارهای خشک کن های پاششی و راهکار های مناسب برای کاهش اثرات زیان آور دما بر روی زیست مولکول ها را مرور کرده اند. خشک کردن پاششی

---

1 Beijerinckia sp

2 Encapsulated

روش یک مرحله ای خوبی برای تولید مواد زیست مولکولی با ویژگی های منحصر به فرد ایجاد می کند. امروزه از خشک کن های پاششی برای خشک کردن داروها، پروتئین ها، و پپتید ها استفاده می شود. تنها عاملی که باعث کم توجهی به خشک کن های پاششی شده، ناشی از این حقیقت است که دمای بالاتر از ۱۰۰ درجه ممکن است بر روی مواد زیستی تاثیر بگذارد که بدین منظور از خشک کن های پاششی همسو برای خشک کردن استفاده می شود (Ameri and Maa, 2006).

مقالات مرور شده نشان می دهد که خشک کن پاششی برای طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها و بویژه مخمر نان استفاده می شود. برای خشک کردن مخمر نان و بهبود کیفیت آن تاکنون مطالعات کمتری انجام شده است. علاوه براین روش تعیین کیفیت مخمر اغلب زیست پذیری آن بوده است و بر روی فعالیت تمخیری مطالعات کمتری انجام شده است. در این تحقیق فعالیت تخمیری برای خشک کردن مخمر نان در خشک کن پاششی بهینه سازی شده است.

فصل دوم

تئوری مربوط به تولید خمیرمایه

۲-۱- خمیرمایه و توضیحی کلی درباره تولید تجاری آن

مخمر نان به طور تجاری طی فرآیندی چند مرحله‌ای تولید می‌شود. در مراحل اولیه، تخمیر به صورت ناپیوسته (Batch) انجام شده و در مراحل بعدی تخمیر به صورت نیمه پیوسته (Fed-Batch) انجام می شود. در پایان آخرین مرحله تخمیر، سلول های مخمر را با استفاده از تغلیظ کننده های سانتریفیوژی از مایع تخمیر جداسازی و شستشو می نمایند. با توجه به حجم فرمانتورها، توان هوادهی فرمانورها و ظرفیت تولید می‌توان تخمیر را چند مرحله انجام داد به عنوان مثال رید و پیلر فرآیندی پنج مرحله‌ای را توسعه دادند که نهایتاً به تولید ۱۲۵ تن مخمر طی یک چرخه می‌انجامید و ناگوداویتانا فرآیندی هشت مرحله‌ای را برای تولید مخمر نان توسعه دادند که نهایتاً به ۱۰۰ تن مخمر در هر چرخه می‌انجامید (Stanbury et al., 2000). مراحل اولیه تخمیر که ناپیوسته نیز می باشند در شرایط کاملا سترون انجام شده در حالیکه مراحل بعدی که نیمه پیوسته هستند تحت شرایط کاملا سترون انجام نمی شوند ولی سعی می شود تا حد امکان ورود آلودگی به حداقل رسانده شود. نمایی از فرآیند تولید خمیرمایه تجاری در شکل ۲-۱ نشان داده شده است.