دانشکده کشاورزی

گروه علوم و صنایع غذایی

پایان‌نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم و صنایع غذایی

عنوان پایان‌نامه

بهینه‌سازی تولید نوشیدنی تخمیری کامبوجا با استفاده از شیره خرما و برگ به‌لیمو و پودر دارچین

اساتید راهنما

دکتر محمود رضازاد باری **دکتر محمد علیزاده خالدآباد**

نگارش

سیمین زاده‌گان‌خواجه

بهمن ۱۳۹۳

تقدیم

تقدیم به آنان که دعایشان بدرقه راهم بود

روح پدرم

مادرم

خواهر و برادرانم

همسرم

تقدیر و تشکر

خدای خود را شاکرم که به راه کسب علم و دانش رهنمونم شد و نعمت نوشیدن جرعه ای از دریای بی منتهای علم لایزال خویش را به من ارزانی فرمود. اکنون که به یاری خداوند متعال توفیق انجام این پایان نامه را یافته ام به حکم ادب و وظیفه بر خود لازم می دانم از تمام عزیزانی که مرا در این راه یاری نمودند هر چند خیلی کوتاه تقدیر و تشکر کنم.

سپاسگزارم از:

اساتید راهنما جناب آقای دکتر محمود رضازاد، الگوی اخلاق و تواضع و همچنین از جناب آقای دکتر محمد علیزاده الگوی علم و انسانیت.

هیئت محترم داوران جناب آقای دکتر الماسی و جناب آقای دکتر اسمعیلی و تمامی اساتید گروه علوم و صنایع غذایی که در طول این دوره از محضر ایشان استفاده نمودم.

تمام عزیزانی که به نوعی از کمک و راهنمایی شان بهره مند شدم، جناب آقای مهندس خشایی، خانم ها مهندس جعفری، مهندس اسمعیلی و ندا مؤمنی و آقای نادر قهرمان نژاد.

دوستان مهربانم که بودنشان دلگرمی و حرف و دلشان یکی بود، حدیث حیدری، پروین حسنعلی زاده، روشنک رضایی، فاطمه ابراهیمی و ستاره عطالو به پاس لحظه های یکدلی و خاطره روزهای باهم بودن.

چکیده

کامبوجا یک نوشیدنی تخمیری است که توسط یک کشت همزیست از مخمرها و باکتری‌ها تهیه می‌شود. ماده اولیه مورد استفاده برای تولید کامبوجا معمولاً چای شیرین شده با شکر می‌باشد. در این مطالعه از کنسانتره خرما به‌عنوان جایگزین شکر در نوشیدنی کامبوجا استفاده شده است.

تأثیر نسبت‌های مختلف شکر، کنسانتره خرما، پودر دارچین و برگ به‌لیمو و هم‌چنین زمان تخمیر بر روی فاکتورهای مختلف کیفیت کامبوجا با کاربرد روش آماری سطح پاسخ ((RSMمورد بررسی قرار گرفت. پس از گردآوری داده‌ها، از آنالیز واریانس و تست فیشر برای بررسی معنی‌دار بودن اثرات در سطح ۰/۰۵ استفاده گردید. فاکتورهای مختلف شامل pH، اسیدیته کل، فنل کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، الکل، لایه کامبوجای تولیدی اندازه‌گیری و مدل‌سازی شد. ۴۴ فرمولاسیون مختلف نوشیدنی کامبوجا طبق طرح آماری تهیه شد. نتایج حاصل به‌وسیله نرم‌افزار SAS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بهینه‌سازی بر پایه مقدار pH در محدوده ۳-۲، مقدار اسیدیته بهینه (۰/۵-۰/۴ گرم در ۱۰۰ گرم)، بیشترین مقدار فنل و اتانول کمتر از ۱٪ تعیین شد. شرایط بهینه در میزان ساکارز ۸۵/۸۶٪ و میزان کنسانتره خرما ۱۴/۱۳٪ از منبع کربن، زمان تخمیر ۸/۶ روز، مقدار به‌لیمو ۰/۶۵ و مقدار دارچین ۰/۷۵ گرم بر لیتر به‌دست آمد. در این نقطه مقدار pH ۲/۹۹، اسیدیته g/100g ۰/۴۹ و مقدار فنل کل (ugGAE/ml) ۵۸/۲۴ و مطلوبیت ۰/۳۸۱ می‌باشد.

نتایج نشان داد که بیشترین مقدار pH در بیشترین مقدار پودر دارچین و به‌لیمو به‌دست آمده است و با افزایش نسبت شکر به کنسانتره خرما pH کاهش یافت. بیشترین مقدار اسیدیته در بیشترین مقدار کنسانتره خرما حاصل شد. با افزایش نسبت کنسانتره به شکر و ثابت بودن متغیرهای دیگر، فنل کل افزایش یافت. مقدار اتانول تنها متأثر از زمان تخمیر بود و باگذشت زمان افزایش یافت. لایه سلولزی کامبوجا نیز متأثر از زمان تخمیر بود و درغلظت‌های بالای کنسانتره به بیشترین مقدار رسید.

واژگان کلیدی: پودر دارچین، به‌لیمو، شیره خرما، نوشیدنی تخمیری کامبوجا

فهرست مطالب

۱ کلیات ۳
۱-۱ کامبوجا ۳
۱-۱-۱ تاریخچه مصرف کامبوجا ۴
۱-۱-۲ طرز تهیه نوشیدنی کامبوجا ۴
۱-۱-۳ سوبسترای مورد استفاده برای تولید کامبوجا ۵
۱-۱-۴ میکروبیولوژی کامبوجا ۵
۱-۱-۵ همزیستی بین میکروارگانیزمهای کامبوجا ۱۰
۱-۱-۶ ترکیبات حاصل از فعالیت میکروبی در کامبوجا ۱۱
۱-۱-۷ لایه سلولزی کامبوجا ۱۲
۱-۱-۸ اثر کامبوجا بر سلامت ۱۵
۱-۱-۹ اثرات ضد میکروبی کامبوجا ۱۷
۱-۲ چای ۱۸
۱-۳ گیاه به‌لیمو ۱۹
۱-۳-۱ ریخت‌شناسی ۱۹
۱-۳-۲ مواد تشکیل‌دهنده به‌لیمو ۲۰
۱-۳-۳ کاربردها ۲۱
۱-۳-۴ طرز نگهداری ۲۲
۱-۴ دارچین ۲۲
۱-۴-۱ ترکیبات شیمیایی ۲۳
۱-۴-۲ خواص درمانی ۲۴
۱-۵ خرما ۲۴
۱-۵-۱ فراوردههای حاصل از خرما ۲۵
۱-۶ ترکیبات فنلی ۲۷
۱-۶-۱ روش اندازه‌گیری ترکیبات فنلی ۲۸
۱-۷ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی ۲۹

۱-۷-۱ طبقه‌بندی آنتی‌اکسیدان‌ها ۳۱

۲ مروری بر منابع ۳۴

۲-۱ شناسایی و اندازه‌گیری ترکیبات کامبوجا ۳۴

۲-۲ مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی کامبوجا ۳۴

۲-۳ مطالعه پلی‌فنلهای کامبوجا ۳۶

۲-۴ مطالعه لایه سلولزی ۳۷

۲-۵ تولید کامبوجا با استفاده از دیگر منابع قندی ۳۷

۳ مواد و روش‌ها ۴۰

۳-۱ مواد مورد استفاده ۴۰

۳-۲ لوازم آزمایشگاهی و تجهیزات مورد استفاده ۴۱

۳-۳ روش‌ها ۴۱

۳-۳-۱ طرح آزمایشی و تیمارهای آماری ۴۱

۳-۳-۲ روش تولید استارتر ۴۴

۳-۳-۳ روش تولید نوشیدنی کامبوجا ۴۴

۳-۳-۴ اندازه‌گیری pH نمونه‌ها ۴۶

۳-۳-۵ اندازه‌گیری اسیدیته کل نمونه‌ها ۴۶

۳-۳-۶ اندازه‌گیری الکل اتیلیک ۴۶

۳-۳-۷ اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۴۷

۳-۳-۸ اندازه‌گیری فنل کل ۴۸

۳-۳-۹ اندازه‌گیری جرم لایه سطحی کامبوجا ۴۸

۳-۳-۱۰ ارزیابی حسی ۴۸

۴ نتایج و بحث ۵۰

۴-۱ pH ۵۰

۴-۲ اسیدیته ۵۳

۴-۳ فنل کل ۵۶

۴-۴ لایه کامبوجا ۶۱

۴-۵ اتانول ۶۲

۴-۶ فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۶۳

۴-۷ بهینه‌سازی..... ۶۳
۴-۸ ارزیابی حسی..... ۶۵
۵ نتیجه‌گیری و پیشنهادات..... ۶۷
۵-۱ نتیجه‌گیری..... ۶۷
۵-۲ پیشنهادات..... ۶۷

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱ ساختارشیمیایی سلولز ۱۲
شکل ۱-۲ لایه سلولزی کامبوجا ۱۳
شکل ۱-۳ چگونگی ساخت سلولز از واحدهای قندی گلوکز و فروکتوز توسط باکتری استوباکترزایلینوم ۱۳
شکل ۱-۴ گیاه به‌لیمو ۲۰
شکل ۱-۵ برگ خشک به‌لیمو ۲۰
شکل ۳-۱ نمونه‌های تخمیر شده کامبوجا ۴۵
شکل ۴-۱ تأثیر زمان و به‌لیمو بر pH ۵۱
شکل ۴-۲ تأثیر نسبت‌های دارچین و به‌لیمو بر pH ۵۲
شکل ۴-۳ تأثیر نسبت‌های مخلوط شکر -کنسانتره خرما بر مقدارpH ۵۳
شکل ۴-۴ تاثیر نسبت‌های مخلوط شکر -کنسانتره خرما و زمان‌بر اسیدیته ۵۴
شکل ۴-۵ تأثیر نسبت‌های مخلوط شکر- کنسانتره خرما و دارچین بر اسیدیته ۵۵
شکل ۴-۶ تأثیر نسبت‌های مخلوط شکر و کنسانتره خرما و به‌لیمو بر مقدار فنل کل ۵۶
شکل ۴-۷ تأثیر نسبت‌های مخلوط شکر-کنسانتره خرما و دارچین بر مقدار فنل کل ۵۷
شکل ۴-۸ تأثیر نسبت‌های شکر-کنسانتره خرما و زمان‌بر مقدار فنل کل ۵۸
شکل ۴-۹ اثر متقابل زمان و به‌لیمو بر مقدار فنل کل ۵۹
شکل ۴-۱۰ اثر متقابل زمان و دارچین بر مقدار فنل کل ۶۰
شکل ۴-۱۱ تأثیر نسبت‌های مخلوط شکر-کنسانتره خرما و زمان‌بر تولید لایه کامبوجا ۶۱
شکل ۴-۱۲ تأثیر زمان‌براتانول ۶۲
شکل ۴-۱۳ نمودارهای بهینه‌سازی ۶۴

فهرست پیوست‌ها

جدول ۱-۱ میکروارگانیزمهای متداول در کامبوجا..... ۸
جدول ۳-۱ نمایش متغیرهای مستقل فرایند و مقادیر آن‌ها..... ۴۲
جدول ۳- ۳-۲ طراحی آزمون‌ها..... ۴۲
جدول ۵–۱ آنالیز واریانس اثر متغییرهای مستقل بر مقدارpH..... ۷۶
جدول ۵-۲ آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر مقدار اسیدیته..... ۷۷
جدول ۵-۳ آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر مقدار فنل کل..... ۷۸
جدول ۵–۴ آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر مقدار اتانول..... ۷۹
جدول ۵- ۵ آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر مقدار بیومس..... ۸۰
جدول ۵- ۶ آنالیز واریانس اثر متغیرهای مستقل بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی..... ۸۱
جدول ۵–۷ امتیازات ازمون ارزیابی حسی..... ۸۲

فصل اول

کلیات

مقدمه

ساکارز به‌عنوان یک شیرین‌کننده طبیعی فواید فراوانی دارد، اما به دلیل ارتباط با برخی مشکلات سلامتی مانند فشارخون، بیماری‌های قلبی، فساد دندان، چاقی و افزایش سطح گلوکز و انسولین خون و هم‌چنین مسائل اقتصادی و تکنولوژیکی، پژوهش‌های روزافزونی برای جایگزینی مناسب شکر با سایر شیرین‌کننده‌های طبیعی در حال انجام است (احمدنیا و همکاران، ۱۳۸۷).

با توجه به این‌که ارقام مختلف خرما دارای میزان قند قابل‌توجهی بوده، لذا یکی از راه‌های استفاده از خرما در صنایع غذایی، جایگزینی آن به‌جای شکر در فرمولاسیون مواد غذایی است (احمدی گاولیقی و همکاران،۱۳۹۰).

شیره خرما یکی از باارزش‌ترین محصولات ثانویه خرماست که سرشار از قندهای طبیعی نظیر فروکتوز و گلوکز است، اما درصد قند ساکارز در آن کم است. شیره خرما مقدار فراوانی پتاسیم، کلسیم، فسفر و آهن دارد و برای تغذیه کودکان و بانوان در زمان شیردهی و سالمندان غذای مفیدی است. جایگزین کردن شیره خرما در فرمولاسیون مواد غذایی علاوه بر این‌که می‌تواند جایگزین مناسبی برای شکر یا شیرین‌کننده‌های ساختگی مضر باشد، می‌تواند سبب بهبود خواص تغذیه‌ای مواد غذایی شود.

در سال‌های اخیر تمایل به تولید محصولات تخمیری به دلیل خواص سلامت بخش آن‌ها افزایش یافته (Özer and Kirmaci, 2010) که در این بین نوشیدنی تخمیری کامبوجا یکی از محصولاتی است که اخیراً مورد توجه مصرف‌کنندگان واقع شده است.

هدف از تحقیق پیش رو جایگزینی شیره خرما به‌جای ساکارز و بهبود عطر و طعم به‌وسیله گیاهان معطر می‌باشد.

۱ کلیات

۱-۱ کامبوجا[۱]

کامبوجا یک نوشـیدنی سنتی است که از تخمیر چای شیرین شده به‌وسیله قارچ چای[۲] تهیه می‌شود. قارچ چای یک کشـت همزیست از مخمرهای اسموفیل و باکتری‌های استیک اسید است. کامبوجا از دو قسمت، لایه سلولزی شناور بر روی سـطح و مایع‌ترش تخمیر شـده تشـکیل شده است. این محصول دارای طعم شیرین، اسیدیته ملایم و نیز تا حدودی گازدار می‌باشـد. کشـورهای مصـرف‌کننده آن در گذشته آلمان، روسیه و چین بوده‌اند، ولی در حال حاضر در اکثر کشورها مصرف می‌شود.

اثرات مفید این محصـول روی سـلامتی، مصـرف این محصول را افزایش داده است. بیان‌شده که کامبوجا می‌تواند موجب کاهش فشارخون، تسکین ورم مفاصل و تقویت سیستم ایمنی شده و نیز از ابتلا و پیشرفت سرطان جلوگیری نماید. هم‌چنین گزارش شـده این نوشـیدنی علیه بیماری‌های متابولیکی، آرتروز، سوءهاضمه و انواع مختلف سرطان اثر دارویی دارد. این اثرات علاقه به مصـرف کامبوجا را افزایش می‌دهد.(Jayabalan et al.2002؛ velicanski et al.2013).

کـامبوجـا در منـاطق مختلف جهـان نام‌های دیگری نیز دارد که بعضـــی از این نام‌ها عبارت‌اند از: قارچ چای، چای

---

۱ -Kombucha

۲ -Tea Fungus

منچوری[۱]، مادر سرکه[۲]، قارچ ژاپنی[۳]، قارچ جادویی[۴]، قارچ ولگا[۵]، قارچ فوق‌العاده[۶] و قارچ اندونزیایی[۷].

۱-۱-۱ تاریخچه مصرف کامبوجا

این محصول از ۲۲۰ سال قبل از میلاد در ایالت منچوری چین به‌عنوان ماده‌ای با خواص جادویی مصرف می‌شود و از آنجا به دیگر نقاط جهان فرستاده شده است. در گذشته مصرف کامبوجا در روسیه رایج بوده و به‌عنوان درمانی برای بیماری‌های متابولیکی، بواسیر و رماتیسم استفاده می‌شده است. در طول جنگ جهانی دوم مصرف کامبوجا در خارج از روسیه از جمله اروپای غربی و آفریقای شمالی رواج پیدا کرد. بعد از جنگ جهانی دوم باوجود آلودگی‌های ناشی از پیشرفت‌های صنعتی و مواد سمی مورد استفاده در جنگ، مشاهده شد در مناطقی که مردم کامبوجا مصرف می‌کردند، ابتلا به سرطان به نحو چشمگیری کاهش یافته است. اروپایی‌ها از این محصول به‌خاطر اثر احتمالی سم‌زدایی در کبد و خون و هم‌چنین بهبود هضم مواد غذایی در دستگاه گوارش استفاده می‌کردند (Greenwalt et al.2000).

۱-۱-۲ طرز تهیه نوشیدنی کامبوجا

برگ‌های چای به آب جوش اضافه می‌شود و اجازه داده می‌شود حدود ده دقیقه دم شود. سپس برگ‌های چای جدا می‌شود و ۵۰ گرم بر لیتر ساکاروز در چای داغ حل شده و سپس تا دمای محیط خنک می‌شود. چای در ظرف دهان‌گشاد پر شده و با افزودن سرکه یا کامبوجای از قبل آماده شده اسیدی می‌شود. قارچ چای بر سطح چای گذاشته شده و ظرف با دقت با پارچه تمیز پوشانده شده و در دمای اتاق ($۲۰-۳۰c^{o}$) به مدت ۸-۱ روز انکوبه

۱- Manchuria tea

۲- Mother of Vinegar

۳ -Fungus Japonicus

۴ -MiracleFungus

۵- VolgaFungus

۶ -Wonder Pilz

۷ -Indonesian Tea Fungus

می‌شـود. طی تخمیر، قارچ چای دختر در سطح چای تشکیل می‌شود. قارچ چای از سطح برداشته و در حجم کمی از چای تخمیر شـده نگهداری می‌شـود. نوشـیدنی را صاف کرده و در بطری در بسته در محیط ۴ درجه ذخیره می‌شود. طعم کـامبوجـا طی تخمیر از یک طعم ترش میوه‌ای دلپذیر بعد از چند روز به طعم ســـرکه‌ای در طول تخمیر تغییر می‌کند (Dufrense et al.2000).

۱-۱-۳ سوبسترای مورد استفاده برای تولید کامبوجا

چای دم‌کرده و شـیرین شـده سـوبسترایی است که میکروارگانیسم‌های کامبوجا برای تولید محصول نهایی روی آن رشـد می‌کنند. برای پیشـرفت تخمیر و رشد میکروارگانیسم‌ها، چای باید شیرین شود. ساکاروز به‌عنوان منبع کربن و چـای بـه‌عنوان منبع نیتروژن (مشـــتقـات پورین، کافئین، تئوفیلین)، کربن و نیتروژن کشـــت قارچ چای را فراهم می‌کنند(VELIĆANSKI et al., 2013). برای تولید کامبوجا از چای سـبز هم اسـتفاده می‌شود، ولی چای سیاه منبع سـنتی و اصـلی برای تخمیر کامبوجا است و بیشتر افراد ترجیح می‌دهند از چای سیاه استفاده کنند، که یکی از دلایل آن عطر و طعم خاص چای سـیاه می‌باشـد. کافئین و پلی‌فنل‌های موجود در غلظت بالا خواص ضد میکروبی دارند. مشـخص شـده که در عصـاره خشک‌شده چای سبز ۳۴ درصد کاتچین وجود دارد که این مقدار در چای سیاه فقط ۱۴/۲ ٪ می‌باشـد. در نتیجه اثر ضـد میکروبی چای سـبز بیشـتر از چای سیاه می‌باشد. چای سبز تأثیر بیشتری روی تخمیر داشته و مدت تخمیر را کوتاه‌تر می‌کند(Greenwalt et al.2000).

۱-۱-٤ میکروبیولوژی کامبوجا

۱-۱-٤-۱ تنفس[۱] و تخمیر[۲]

تجزیه مولکول‌های زیسـتی به واحدهای کوچک‌تر، فرایندی انرژی‌زا بوده و در مسیرهای بیوشیمیایی خاصی موسوم

---

[۱]- Respiration

[۲]-Fermentation

به مسیرهای کاتابولیک رخ می‌دهد. هم‌چنین سنتز این مولکول‌ها از واحدهای کوچک‌تر فرایندی انرژی‌خواه است و در مسیرهای بیوشیمیایی آنابولیک صورت می‌گیرد. قندها اولین منبع تأمین انرژی به‌شمار می‌روند. برای این منظور هرکدام از مونوساکاریدهای شش کربنه نظیر گلوکز، فروکتوز و گالاکتوز ابتدا در مسیر کاتابولیک خاصی موسوم به گلیکولیز به دو مولکول پیروات می‌شکنند. ضمن این عمل مقداری انرژی آزاد می‌شود. در شرایط هوازی، اکسیداسیون قندها کامل صورت می‌گیرد. در این شرایط پیروات حاصله به میتوکندری راه می‌یابد و در چرخه کاتابولیکی موسوم به چرخه کربس به دی‌اکسیدکربن و آب تبدیل می‌شود. این عمل با رها شدن مقدار زیادی انرژی همراه است. دی‌ساکاریدهایی نظیر ساکاروز، لاکتوز، مالتوز نیز ابتدا به واحدهای مونوساکاریدی تجزیه می‌شوند و سپس در مسیر کاتالیتیکی گلیکولیز قرار می‌گیرند.

سلول‌ها برای تأمین انرژی مورد نیاز خود، مواد غذایی برگرفته از محیط را اکسید می‌کنند. هرگاه اکسیداسیون ماده غذایی کامل صورت گیرد، آن را تنفس[1] می‌نامند. در برخی از سلول‌ها، تنفس با مصرف اکسیژن آزاد و تولید دی‌اکسیدکربن و آب انجام می‌شود. این نوع تنفس هوازی نامیده می‌شود. در تنفس بی‌هوازی ضمن اکسیداسیون کامل ماده غذایی، به‌جای اکسیژن، گوگرد، ازت و ...مصرف شده و در این تنفس آب تولید نمی‌شود. اکسیداسیون ناقص ماده غذایی را تخمیر می‌نامند. بعضی از سلول‌ها صرفاً در شرایط خاص واکنش‌های تخمیری انجام می‌دهند. تعداد زیادی از انواع میکروب‌ها انرژی مورد نیاز خود را صرفاً از واکنش‌های تخمیری تأمین می‌کنند. واکنش‌های تخمیری را بر اساس نوع محصول نهایی آن‌ها دسته‌بندی می‌نمایند. تبدیل پیروات به اسیدلاکتیک را که عمدتاً توسط باکتری‌ها صورت می‌گیرد، تخمیر اسیدلاکتیک گویند. تبدیل پیروات به الکل و دی‌اکسیدکربن که غالباً به کمک مخمر رخ می‌دهد را تخمیر الکلی می‌گویند.

[1]- Respiration

۱-۱-٤-۲ مخمر

جایگاه مخمرها در ارتباط با انسان همانند جایگاه دام‌های اهلی در میان حیوانات است. مخمرها تک‌سلولی‌های یوکاریوتی پست می‌باشند که اغلب در فرایندهای تخمیری شرکت می‌کنند. مخمرها در طبیعت وفور زیادی داشته و اکثراً در خاک زندگی می‌کنند و تا زمانی که شرایط محیطی مناسبی برای رشد و تکثیر آن‌ها فراهم آید، به‌صورت غیرفعال هستند. دمای مناسب، رطوبت کافی، وجود قندهایی نظیر گلوکز، ساکاروز و لاکتوز از عوامل مطلوب برای رشد و ازدیاد این موجودات میکروبی محسوب می‌شوند. باد، حشراتی هم‌چون زنبورعسل و حیوانات در نقل و انتقال مخمرها مؤثر می‌باشند. میوه‌های رسیده اغلب محیط مناسب و مساعدی را برای رشد مخمرها فراهم می‌سازند. زمان که یک میوه رسیده با مخمر آلوده می‌شود قند موجود در آن توسط این میکروب‌ها به الکل و سرکه تبدیل می‌شود. مخمرها حاوی درصد بالایی پروتئین، ویتامین، مواد معدنی و استرول خصوصاً ارگوسترول می‌باشند. لازم به ذکر است که گلیسرول و مقدار اندکی الکل‌های طویل‌تر از بوتانول از دیگر ترکیباتی هستند که به‌وسیله مخمرها تولید می‌شوند. برخی مخمرها می‌توانند ترکیباتی نظیر اسیداستیک، اسیدلاکتیک، اتیل استات و اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع تولید کنند. بیشتر مخمرها ارگانیزم‌های سودمندی هستند و امروزه ارزش اقتصادی و تجاری زیادی دارند و اغلب در تهیه فراورده‌های غذایی تخمیری به‌کار می‌روند. برای مثال مخمرها در تهیه نوشیدنی‌های تخمیری، کفیر، کامبوجا و... کاربرد دارند. هم‌چنین کاکائویی که در تهیه شکلات استفاده شایانی یافته است، به‌وسیله فرایندهای تخمیری و به کمک مخمر تهیه می‌گردد. باوجود تعدد و گوناگونی بی‌شمار مخمرهای سودمند، تعداد اندکی از این‌ها مضر بوده و سلامتی ما را تهدید می‌کند. از جمله مخمرهای بیماری‌زا می‌توان از مخمر کاندیدا آلبیکانز[۱] نام برد که می‌تواند در عملکرد سیستم ایمنی بدن اختلالات جدی ایجاد نماید. خوشبختانه هیچ یک از مخمرهای کامبوجا بیماری‌زا نیستند و محیط اسیدی کامبوجا از رشد و تکثیر مخمر کاندیدا آلبیکانز جلوگیری می‌کند.

مخمرها در برابر پرتوهای ماورای بنفش فوق‌العاده آسیب‌پذیر هستند. رنگ مات لایه سلولزی کامبوجا از اصابت

۱- Candida albicans

پرتوهای ماورای بنفش به میکروب‌های زیرین جلوگیری می‌کند.

جوانه زدن و تقسیم دوتایی از روش‌های تولیدمثل غیرجنسی مخمرها محسوب می‌شوند. کلیه مخمرهای کامبوجا به‌استثنای شیزوساکارومیسزپامپ[1] به روش جوانه زدن تولیدمثل می‌کنند. تولیدمثل مخمر کامبوجایی شیزوساکارومیسزپامپ از طریق تقسیم دوتایی صورت می‌گیرد.

۱-۱-٤-۳ باکتری

باکتری‌ها سلول‌های پروکاریوتی محسوب می‌شوند، لذا فاقد هسته حقیقی و اندامک‌های درون سیتوپلاسمی هستند. اغلب باتری‌ها برای انسان بی‌ضرر و برخی دیگر حتی مفید هستند. باکتری‌های محافظ روده‌ای، باکتری‌هایی که در تهیه آنزیم‌ها، ویتامین‌ها و تولید فراورده‌های تخمیری شرکت دارند، همگی از زمره باکتری‌های مفید و سودمند به‌شمار می‌روند. استوباکترزایینوم[2] باکتری مهم کامبوجاست که بخش عمده لایه سطحی کامبوجا را می‌سازد و هم‌چنین در تولید سرکه نیز نقش دارد (یوسفی و همکاران،۱۳۷۸).

استیداستیک باکتری‌ها و مخمرهای عمده کامبوجا در جدول ۱-۱ آمده.

جدول ۱-۱ میکروارگانیزم‌های متداول در کامبوجا (Battikh et al.2012؛ ufres et al.2000).

مخمرها	باکتری‌ها
Schizosaccharomyces pombe	Acetobacter xylinum
Saccharomycodes ludwigii	Acetobacter xylinoides
Kloeckera apiculata	Acetobacter aceti
Saccharomyces cerevisiae	Acetobacter pasteurianus
Zygosaccharomyces bailii	Bacterium gluconicum

[1]- Schizosaccharomyces pombe

[2]- Acetobacter xylinum

	Torulaspora delbrueckii
	Brettanomyces bruxellensis
	Brettanomyces lambicus
	Brettanomyces custersii
	Candida stellata
	Candida
	Pichia

مشخصات برخی از مخمرها و باکتری‌های عمده در کامبوجا به شرح زیر می‌باشد:

- *شیزوساکارومایسز پومب*: این مخمر سلول‌های کروی، بیضوی یا استوانه‌ای دارد و ایجاد رسوب می‌کند. این میکروارگانیزم قندهای گلوکز، ساکاروز، مالتوز و رافینوز را تخمیر می‌کند. بیشتر اعضای این جنس می‌توانند قندهای بزرگ‌تر(الیگوساکاریدها) را مورد حمله قرار دهند. ملاس، آب‌انگور، نیشکر، سیب‌درختی از منابع این مخمر محسوب می‌شود.
- *ساکارومایسز لودویجی*: این مخمر سلول‌های لیمویی شکل یا کشیده دارد. میسلیوم کاذب در این مخمرها رشد اندکی نشان می‌دهد.ایجاد رسوب و حلقه می‌کنند. این مخمر قندهای گلوکز، رافینوز و ساکاروز را تخمیر می‌کند. این میکرو ارگانیزم نسبت به نور خورشید حساسیت زیادی دارد و پرتوهای خورشیدی به‌شدت از رشد آن جلوگیری می‌کند. از دیگر منابع آن می‌توان از مواد مترشحه درخت بلوط نام برد.
- *پیشیا فرمنتانس*: این مخمر حیف کاذب تشکیل می‌دهد و هاگ‌های کلاهی شکل دارد. گلوکز را سریعاً تخمیر می‌کند و قادر است در شرایط اسیدی رشد و تکثیر نماید. این مخمر هم‌چنین D,L–اسیدلاکتیک تولید می‌کند. پنیر ایتالیایی، پرتغال پوسیده، زیتون کالیفرنیایی و کفیر از دیگر منابع این مخمر هستند.
- *استوباکتراستی*: این باکتری محیط غنی از الکل را ترجیح می‌دهد و از قندهای ساده نظیر گلوکز به‌عنوان منبع اضافی انرژی استفاده می‌کند.هم‌چنین این باکتری به محیط غنی از ویتامین‌های B که توسط

مخمرها محیا شده نیازمند است.

- *استوباکتر زایلینوم*: این باکتری بیضوی تا کشیده می‌باشد و در محیط حاوی اتانول به‌خوبی رشد می‌کند و الکل اتانول را به اسید استیک تبدیل می‌کند و قادر است استات و لاکتات را به دی‌اکسیدکربن و آب تبدیل کند.
- *باکتریکوم گلوکونیکوم*: این باکتری کروی تا کشیده می‌باشد و اغلب بین سه تا هشت تاژک انتهایی دارد. در دمای بهینه c^{o} ۳۰-۲۵ قادر است اتانول را به اسیداستیک تبدیل کند. میوه‌های ترش و سبزیجات از دیگر منابع این باکتری هستند. هم‌چنین در تبدیل گلوکز به اسیدگلوکونیک نقش دارد. فرایند تبدیل گلوکز به اسید گلوکونیک هم به کمک این باکتری و هم به‌وسیله مخمر *شیزوساکارومایسز* پومپ انجام می‌گیرد (یوسفی و همکاران،۱۳۷۸).

۱-۱-۵ همزیستی بین میکروارگانیزم‌های کامبوجا

مشخص شده است که کامبوجا یک همزیست از باکتری *استوباکتر* و چندین گونه مخمر می‌باشد و بین مخمرها و باکتری‌های موجود در کامبوجا همزیستی وجود دارد. این همزیستی به‌طور خلاصه به این ترتیب است که اتانول تولید شده توسط مخمرها باعث افزایش تولید اسیداستیک توسط باکتری‌ها می‌شود و اسیداستیک تولید اتانول را در مخمرها تحریک می‌کند. از طرف دیگراتانول و اسیداستیک تولید شده توسط میکروارگانیزم‌های موجود در لایه کامبوجا از فعالیت میکروارگانیزم‌های فسادزا که ممکن است لایه کامبوجا به آن‌ها آلوده‌شده باشد، جلوگیری می‌کنند. اغلب فرایندهای بیوشیمیایی که ضمن تخمیر کامبوجا رخ می‌دهد به کمک باکتری *استوباکترزایلینوم* و یا مخمر *زیگوساکارومایسز* انجام می‌گیرد.

$$C_{12}H_{24}O_{12} \xrightarrow[\text{مخمر}]{\text{مخمر}} C_6H_{12}O6 + C_6H_{12}O_6$$