الفصل الخامس

خمائر الخبيز
Baker's yeasts

(٥،١) مقدمة تاريخية Historical perspective

بدأ الإنسان منذ زمن بعيد بدأ في حصاد بذور النباتات وطحنها إلى دقيق ثم قام بخلط الدقيق بالماء، ثم يخبز العجين الناتج ليحصل على خبز. ثم اكتشف الإنسان القديم اكتشاف هام جداً وهو أن يترك العجين الذي حصل عليه فترة من الزمن قبل أن يخبزه على النار وبذلك يحصل على خبز أكثر جودة. ولم يعلم الإنسان أن السبب في الحصول على خبز أكثر جودة بعد ترك العجين فترة من الزمن هو أن العجين قد أصيب بالميكروبات المنتجة للغازات والأحماض وأن هذه الميكروبات ربما كانت خليط من الخميرة وبكتيريا حامض اللاكتيك مما أدى إلى أن أصبح الخبز له قوام إسفنجي دون أن يعلم أن هناك عمليات بيولوجية تمت للحصول على هذا الخبز .

وتقليديا يعرف المهتمون بصناعة الخبز أن هذا الاكتشاف تم في مصر منذ آلاف السنين والدليل على ذلك هو اكتشاف نماذج للمخابز في مقبرة عمرها أكثر من ٤٠٠٠ سنة وجدت في طيبة عاصمة مصر القديمة. ولكي تتم المحافظة على استمرار عملية

obeikandi.com

التخمر الناجح للعجين فقد تعلم الناس القدماء أن يحتفظوا بجزء من العجين المتخمر وغير المخبوز لكي يضاف إلى العجين في المرة التالية. وقد استمرت هذه العملية منذ فجر التاريخ وحتى وقت قريب بل ربما ما زالت تمارس في كثير من البلدان حتى الآن. ثم بعد ذلك استبدلت هذه العملية بإضافة الخميرة التجارية والتي أقيمت لها مصانع لإنتاجها على المستوى التجاري. ويبدوا أن الرومان هم أول من برع في استخدام هذه التقنية في تصنيع الخبز. وقد كان أحد الأسماء القديمة لخميرة البيرة في إنجلترا هو Goddidgoode وهي كلمة ربما تدل على أن الخميرة هي نعمة من الله.

ومن غير المعروف على وجه التحديد متى بدأ إكثار الخميرة بشكل خاص لصناعة الخبز فقد ذكر Kiby (١٩١٢م) في كتابة "صناعة الخميرة" أن العام ١٧٨١م ربما يكون هو بداية إكثار خميرة الخبيز كعملية مستقلة وأن ذلك تم في هولندا ونتيجةً لذلك أطلق على طريقة الإكثار "الطريقة الهولندية". هذه الطريقة كانت منخفضة الكفاءة وأعطت إنتاج من الخميرة مقداره ٤-٦٪ من وزن المواد الخام المستخدمة كما أن كمية كبيرة من الكحول كانت تنتج باستخدام هذه الطريقة. ثم حدث تقدم بعد ذلك سنة ١٨٦٠م باستخدام طريقة أطلق عليها "طريقة فيينا". حدث تقدم ملحوظ في هذه الطريقة في محصول الخميرة التي كانت تنمى تحت ظروف غير هوائية في مهروس الحبوب عن طريق تمرير تيار خفيف من الهواء على المهروس القابل للتخمر. وقد وصلت كمية الخميرة المنتجة بهذه الطريق إلى ١٤٪ من وزن الحبوب المستعملة على الرغم من أن كمية الإيثانول المنتجة كانت عالية جداً (٣٠٪) .

أتم باستير في سنة ١٨٥٨م اكتشافه الهام المتمثل في كمية الخميرة المتحصل عليها من كمية معينة من السكر كانت عالية جداً عندما تم تهوية البيئة بدرجة شديدة. إلا أن تطبيق هذا الاكتشاف في ذلك الوقت لم يؤد إلى نتائج جيدة ربما بسبب نقص وسائل التهوية الجيدة في ذلك الوقت. إن أول استفادة من اكتشاف باستير كانت في سنة ١٨٨٨م طبقاً لما ذكرته المراجع. واستمر تعظيم الاستفادة من هذا الاكتشاف في السنوات التالية لذلك التاريخ بواسطة عديد من الكيمائيين الألمان. ثم حدث نقلة تقنية كبيرة للاستفادة من هذا الاكتشاف بعد نهاية الحرب العالمية الأولى، حيث حدث أثناء هذه الحرب عجز في الحبوب التي كانت تستخدم كمواد خام لإنتاج كتل من الخميرة ونتيجةً لذلك استبدلت الحبوب بمولاس البنجر المضاف إلية الفوسفات والأمونيا. وبعد نهاية الحرب مباشرة استبدلت كل طرق إنتاج الخميرة المتبعة في ذلك الوقت بطريقة التغذية المتقطعة Fed-batch process. في هذه الطريقة يتم إمداد البيئة بالكربوهيدرات (المولاس) كل فترة زمنية محددة أثناء فترة نمو الخميرة وكان هذا ابتكار جديد قام به Sak سنة ١٩١٩م في الدانمارك و Hayduck في نفس السنة في ألمانيا. وعند ابتكار هذه الطريقة كانت نسبة الرطوبة التي تحتوي عليها الخميرة عالية جداً حيث تزيد عن ٧٥٪ من وزن المولاس المستخدم في عملية الإنتاج. والطرق التجارية المستخدمة الآن في إنتاج خميرة الخبيز ما زالت تعتمد بشكل أساسي على هذه الطريقة، إلا أنه تم إضافة ابتكارين جديدين لهذه الطريقة، الابتكار الأول تم اختباره في سنة ١٩٧٥م وهو استخدام نظام التخمر المستمر لإنتاج خميرة الخبيز ويمكن للمرء أن يتخيل أن هذا ابتكار مثالي لإنتاج خميرة الخبيز. غير أنه لم يمكن التحكم في مشكلة

التلوث بالخمائر البرية وخصوصاً خميرة *Candida krusei* التي لها زمن جيل أقصر من زمن الجيل في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* أي أن الخميرة الملوثة تتكاثر بمعدل أسرع من الخميرة المراد إنتاجها. أما الابتكار الثاني فهو إنتاج الخميرة الجافة النشطة والذي سوف يناقش في هذا الفصل.

أصبح إنتاج خميرة الخبيز حالياً يتم على نطاق تجاري واسع في كل دول العالم، بما فيها البلاد النامية التي يوجد بكل منها مصنع أو أكثر لإنتاج الخميرة.

(٥,٢) صناعة الخبز Bread-making

يتم إنتاج معظم منتجات الخبيز خاصة الخبز، بواسطة سلالات من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* التي عندما يتم خلطها بالعجين فإنها تخمر السكر الموجود لتنتج إيثانول وثاني أكسيد الكربون. ويتم التخلص من الإيثانول خلال خطوات الخبيز التالية لعملية التخمير. يؤدي إنتاج ثاني أكسيد في العجين إلى تكوين تجاويف منتظمة بحيث عندما يتم خبز العجين فإنه يعطي شكل منتظم وله قوام يشبه قوام قرص العسل.

البديل الأساسي للخميرة هو إنتاج ثاني أكسيد الكربون كيماوياً عن طريق تفاعل بيكربونات الصوديوم مع ملح حامضي غالباً ما يكون حامض الطرطريك ويعرف هذا الخليط الكيماوي بالبيكنج بودر Baking powder الذي يخلط بالعجين فيبدأ التفاعل بسبب وجود الماء ثم ينتهي التفاعل بالتسخين أثناء عملية الخبيز. وقد استخدمت أيضاً بيكربونات الأمونيوم كبديل للخميرة إلا أن استخدام هذا الملح

محدود فقط في العجائن ذات المحتوى المنخفض من الرطوبة لأن رائحة الأمونيا سوف تكون واضحة إذا كان المنتج النهائي محتوياً على درجة رطوبة عالية. استخدام الـ Baking powder المحتوية على بيكربونات الصوديوم بمعدل ٦٪ من وزن العجين. يؤدي استخدام هذه النسبة من الـ Baking powder إلى إنتاج كمية من ثاني أكسيد الكربون أقل من الكمية التي تنتجها الخميرة. فالخميرة التي تستخدم بمعدل ٢.٥ جرام لكل كيلو جرام من العجين تنتج ٣٥٠ مل من ثاني أكسيد الكربون / ٤٠٠ جرام / ساعة. واستخدام الـ Baking powder يتم على نطاق واسع في البيوت وفي الحالات المستعجلة.

هناك عدة طرق أخرى تستخدم كبدائل للخميرة في العجين فمثلاً عند عمل الكعك المحتوي على بياض البيض فإن مجرد خفق العجين جيداً يؤدي وظيفة الخميرة من حيث انتفاخ العجين. وقد اقترح بعض الباحثين استخدام الأكسجين المتولد من فوق أكسيد الهيدروجين بواسطة إنزيم الكتاليز كبديل أيضاً لاستخدام الخميرة. كذلك فإن الخبز الكرسبي (خبز على شكل رقائق صغيرة) يصنع عن طريق إضافة قطع صغيرة من الثلج إلى العجين قبل الخبز على درجات حرارة عالية جداً. ولكن يجدر الإشارة إلى أن هذه البدائل مهما تطورت، لا يمكن أن تغني أو تصلح كبديل شامل للخمائر، إذ لا يقتصر دور الخميرة على إنتاج ثاني أكسيد الكربون وانتفاخ العجين، بل لها لا وظائف أخرى مهمة تشمل النكهة، والقيمة الغذائية لمنتجات الخبيز.

يجب الإشارة أخيراً إلى العجائن الحامضية Sour doughs التي تحضر من دقيق الشوفان في الغالب ويتم تخميرها بواسطة بكتيريا حامض اللبن وأحياناً خليط من بكتيريا حامض االلبن والخميرة. وقد درست ميكروبيولوجيا هذه العجائن بالتفصيل كما سيأتي ذكره، وعزلت سلالات البكتيريا والخميرة المستخدمة في هذا النوع من العجائن. وقد وجد أن طبيعة الخمائر التي توجد في هذه العجائن تختلف باختلاف مصدر الدقيق واختلاف ظروف التخمر. كما وجد أن كثير من الخمائر التي عزلت من هذه العجائن كانت أكثر مقاومة لدرجة الـ pH المنخفضة ودرجات الحرارة المرتفعة بالمقارنة بخمائر الخبيز التجارية .

(٥,٢,١) دور الخميرة في صناعة الخبز Role of yeast in bread-making

للخميرة عموماً أدوار أساسية في صناعة الخبز، إذ أن الوظيفة الأساسية الأولى لها زيادة حجم العجين بواسطة ثاني أكسيد الكربون الذي ينتج عن التخمر الكحولي لسكريات العجين. وتحدث الخميرة تغير في بناء وقوام العجين نتيجة التمدد الذي يحدث بسبب فقاعات ثاني أكسيد الكربون. وجود خلايا الخميرة نفسها في العجين تعطي نكهة طيبة ومميزة للخبز . وأخيرا فقد وجد البعض أن الخميرة تساهم في القيمة الغذائية للخبز ولكن على الرغم من أن خلايا الخميرة تحتوي على عناصر غذائية ذات قيمة إلا أن البعض يرى أن مساهمتها في رفع القيمة الغذائية للخبز يجب تهميشها لأن نسبة وجود الخميرة في الخبز لا تصل إلى أن تكون مؤثرة في قيمته الغذائية وفيما يلي نلقي الضوء على الثلاث أدوار الأولى.

(٥،٢،١،١) إنتاج ثاني أكسيد الكربون في العجين

Carbon dioxide evolution in doughs

يحتوي الدقيق على سكريات قابلة للتخمر بواسطة سلالات من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* خلال مسار إيمبدن مايهروف أو ما يعرف بعملية تحلل الجلوكوز "Glycolysis" التي ينتج عنها إيثانول وثاني أكسيد الكربون. والسكريات الميسرة في العجائن هي الجلوكوز و الفركتوز والسكروز والمالتوز و خليط من السكريات العديدة المحتوية على بقايا من الجلوكوز والفركتوز يسمى جلوكوفركتان). ويحتوي الدقيق الجاف على ٢٪ (وزن/ وزن) من هذه السكريات. تزداد كمية المالتوز في العجين بمجرد وصول الماء إلى الدقيق وذلك نتيجة فعل إنزيم ألفا وبيتا أميليز على النشا الموجود في الدقيق. وتقدر كمية المالتوز الإضافي الذي يدخل إلى العجين بحوالي ٢.٨٪ من وزن الدقيق المستخدم ويساهم بالجزء الرئيسي في إنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون لأن السكريات الموجودة في الدقيق قبل إضافة الماء لا تكفي لاستمرار التخمر بضعة دقائق وإنما إضافة الماء هي التي تجعل الإنزيمات تؤدي دورها ونتيجة ذلك تزداد تركيزات السكريات. لا تحتوي بعض أنواع الدقيق على كميات كافية من إنزيمات ألفا وبيتا أميليز بعد الطحن وفي هذه الحالة فإن الدقيق في المطحن أو العجين في المخبز، قد يضاف إلية هذه الإنزيمات والتي غالباً ما تكون عبارة عن عبوات تجارية من إنزيمات الفطريات أو من مولت الشعير. وقد يضاف للعجين وخاصة في أمريكا الشمالية والشرق الأقصى فإن العجين قد يضاف له كمية كبيرة من السكروز أو الجلوكوز بتركيز قد يصل إلى ٢٥–٣٠٪ من وزن دقيق العجين. ويساهم

هذا السكر المضاف بالطبع في إنتاج عاز ثاني أكسيد الكربون في العجين كما يعطي مذاق للخبز الناتج.

تلعب درجة الحرارة عند إعداد العجين دوراً هاماً في إنتاج ثاني أكسيد الكربون ولذلك فإن التحكم في درجة حرارة العجين يعتبر ضروري جداً. تتم عملية العجين تقليدياً عند درجة حرارة ٢٥°م وبذلك يطول زمن التخمر لأن هذه الدرجة هي أقل من درجة الحرارة المثلى لإنتاج ثاني أكسيد الكربون بواسطة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* ولكن التقنيات الحديثة للعجين تستخدم درجة حرارة حول ٣٥°م. وقد وجد أنه خلال المراحل الأولى من عملية الخبيز فإن بعض من التخمر يستمر ولكن خلايا الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* سرعان ما تقتل عندما ترتفع درجة الحرارة إلى أعلى من ٥٠°م.

وكما ذكر Pattison و von Holy (٢٠٠١م) تتم تنمية خميرة الخبيز *Saccharomyces cerevisiae* يتم تنميتها تحت ظروف معروفة جيداً ومتحكم فيها بشكل جيد وذلك بغرض التأكد من جودة المنتج النهائي. وبالنسبة لتنمية الخميرة بغرض إنتاجها للاستخدام في الخبيز، فيلزم توفير الظروف التي تنشط التمثيل التنفسي وذلك لضمان إنتاج أكبر كمية كتل حيوية من خلال النمو على المادة الخام. وأهم وظيفة بالنسبة لخميرة الخبيز في صناعة الخبز هي رفع العجين عن طريق إنتاج ثاني أكسيد الكربون من خلال التخمر الكحولي للسكريات .

obeikandl.com

(٥،٢،١،٢) التغير في بناء وقوام العجين

Changes in dough structure and texture

هناك تفسيرات كثيرة جداً لدور الخميرة في تعيير بناء وقوام العجين وهي موجودة في كتب التخمرات منذ الخمسينيات من القرن الماضي. وعلى أية حال فإن من المؤكد أنه بعد ترك العجين فترة ليتخمر فإن خميرة الخبيز تساعد في تطوير بناء الجلوتين ويصبح العجين مطاطاً، ومجهزاً بدرجة جيدة للاحتفاظ بثاني أكسيد الكربون المنتج. ويعتقد أن الخميرة تساهم في مثل هذا التغيير عن طريق حدوث تمدد في جزيئات البروتين (الجلوتين) بواسطة ثاني أكسيد الكربون المنتج. كما يعتقد بعض العلماء أن بعض الأحماض الأمينية مثل السيستئين قد تنتج تحت بعض الظروف بواسطة خلايا الخميـرة وتؤثـر على روابط الـ Disulphide في الجلوتين.

(٥،٢،١،٣) المساهمة في نكهة الخبز

Contribution to bread flavour

لقد وجد العلماء أن الخميرة تساهم بالتأكيد في نكهة الخبز عن طريق إنتاج بعض المركبات. وهذه المركبات عبارة عن أحماض عضوية وكحولات وألدهيدات وكيتونات ويعتقـد أن لها دور رئيسي في طعم أو نكهة الخبز. ومن ناحية أخرى يعتقد أن هناك مركبات أخرى تساهم في نكهة الخبز وتنتج عن طريق تفاعلات أخرى وليس عن طريق الخميرة .

obeikandi.com

(٥,٢,٢) صناعة الخبز التقليدية Traditional bread-making

كان يصنع الخبز منذ حوالي ٥٠ أو ٦٠ سنة فقط في المصانع بنفس الطريقة بالضبط التي يصنع بها في مطبخ أي بيت. وما زالت الطريقة التقليدية أو كما يطلق عليها تخمر الكتلة Bulk-fermentation هي المتبعة الآن بل توجد مؤشرات إلى أن كثير من مصانع الخبز ترغب في العودة إلى هذه الطريقة. يتم في هذه الطريق إعداد العجين عن طريق خلط كميات متناسبة من الدقيق والخميرة والملح (يضاف بسبب تأثيره كمادة حافظة كما أن له دور عضوي في التفاعلات بالإضافة إلى دورة في طعم الخبز) والماء. وعادة ما تضاف الخميرة بنسبة ٤٪ كعجينة خميرة مضغوطة Pressed yeast أو بنسبة ١٪ كخميرة نشطة جافة وذلك من وزن الدقيق المستخدم. هذا الخليط بعد ذلك يعجن باليد أو ميكانيكيا بواسطة العجانة وذلك على مستوى المطبخ في البيت أما في المخابز فيتم العجن بواسطة آلات لها سرعة عجن بطيئة تتناسب مع كمية الدقيق الذي يتم عجنه، وفي كل الحالات يستمر العجن أو الخلط لمدة من ١٠إلى ٢٠ دقيقة حسب صلابة الدقيق ومدى محتواه من البروتين. فالدقيق الصلب والمعروف لدى الخبازون بدقيق الخبز يمتص كمية أكبر من السوائل ومع عملية العجن يعطي بسرعة عجين مطاطي وحجم أكبر لينتج عنه خبز له قوام خفيف. أما الدقيق الطري فيمتص كمية أقل من السوائل ويعطي حجم أصغر وينتج عنه خبز له قوام ثقيل. بعد ذلك يترك العجين لمدة حوالي ٣ ساعات على درجة حرارة ٢٨°م لكي يتخمر ثم يقطع العجين إلى قطع صغير ويترك حوالي ٢٠ دقيقة وتعرف هذه المرحلة "بالبروفة الأولى" ثم يتم تشكيل قطع العجين حسب شكل الرغيف المطلوب ثم توضع الأرغفة في

صواني وتترك من ٤٥ إلى ٦٠ دقيقة على درجة حرارة ٤٠ إلى ٤٢°م وتعرف هذه المرحلة "بالبروفة النهائية" ثم بعد ذلك توضع الصواني المحتوية على الأرغفة في فرن درجة حرارته ٢٢٠ إلى ٢٣٠°م حتى تنضج الأرغفة، ثم تترك الصواني لتبرد. تستهلك هذه الطريقة التقليدية لصناعة الخبز وقت كبير، قد يصل إلى ثمان ساعات أو ربما أكثر إلا أنها بصفة عامة ما زالت هي المستخدمة بل و يتزايد استخدامها لأن الخبز الناتج عنها له مذاق أفضل وشكل أفضل من الخبز الذي يصنع ميكانيكياً في وقت قصير.

(٥,٢,٣) الطريقة الحديثة في تصنيع الخبز Modern methods of bread-making

إن استهلاك وقت كبير في صناعة الخبز بالطريقة التقليدية دفع المختصين في تقنية الخبيز إلى البحث عن وسائل لإسراع هذه العملية. وأدى ذلك إلى التوصل إلى الطريقة الآلية لإسراع عملية التغيير التي تتم في بروتين الدقيق بإدخال بعض الكيماويات إلى العجين. وقد لاحظ الخبازون أن استخدام دقيق قديم في الطريقة التقليدية يجعل عمليات العجن والخبز سهلة بالمقارنة بالدقيق الطازج أو المطحون حديثاً. هذه الملاحظة جعلت الباحثون يقترحون تعريض الدقيق للأكسجين فترة من الزمن لإحداث تغيرات كيماوية تؤدي إلى خبيز أفضل. ثم اتضح أن هذا الظن كان صحيحاً وأن هناك تغيرات كيماوية مفيدة تحدث نتيجة تعرض الدقيق للأكسجين. ولذلك طورت طريقة يتم فيها إضافة مواد مؤكسدة ومختزلة إلى العجين بحيث تؤدي إلى إنتاج أفضل. أول الخلطات التي تم استخدامها كإضافات في الولايات المتحدة

الأمريكية برومات البوتاسيوم والسيستئين (L-cysteine) والشرش المجفف وكانت هذه الخلطة تباع منفصلة تحت اسم Reddi-Sponge . تحتوي الخلطة الشائعة الاستخدام في إنجلترا على برومات البوتاسيوم والسيستئين (L-cysteine) وحامض الاسكوربيك، وقد تم حظر استخدام برومات البوتاسيوم في هذه الخلطات، حالياً في بعض الدول بدعوى أن لها مخاطر صحية.

تضاف مادة بروبيونات الكالسيوم كمادة مضادة للميكروبات الأخرى، في بعض مصانع الخبز ولكن ظهرت دراسات حديثة (McNaughton et al. 1998) تزعم أن بروبيونات الكالسيوم المستخدمة لها أثر تثبيطي على نمو الخميرة وربما يكون لها أيضاً تأثير سيئ على صحة الإنسان. وقد دفعت هذه المعلومات كثير من العلماء مثل Pattison و von Holy سنة ٢٠٠١م إلى تقييم نشاط خميرة الخبيز بالنسبة لاستجابتها لبعض المواد الطبيعية المضادة للميكروبات كبدائل لبربيونات الكالسيوم المستخدمة. في هذه الدراسة تم اختبار مواد طبيعية مضادة للميكروبات وهي حامض الخليك Acetic acid (AA) وحامض اللاكتيك lactic acid (LA) و لاكتات الكالسيوم Calcium lactate (CL) واللاكتات التجارية المحتوية على كوكتيل من المواد Commercial lactate-containing cocktail (LCC) واستخدمت بروبيونات الكالسيوم Calcium propionate (CP) كضابط موجب كما استخدم عجين بدون أي إضافات ككنترول سالب. وقد كان معيار نمو ونشاط الخميرة في وجود أو عدم وجود هذه المواد كمية ثاني أكسيد الكربون التي تنتجها. وقد لوحظ اختلاف كبير بين سلالات الخميرة المختلفة في النشاط التخمري وذلك لأن الخميرة كائن حقيقي النواة ولذلك فإن طبيعته تختلف

باختلاف عوامل كثيرة مثل التخزين والثبات وتحمل الضغط الأسموزي ومقاومة التجميد والإذابة وإنتاج الألوان. كما لوحظ أن هناك اختلاف كبير بين سلالات الخميرة في العجين الذي لم يضاف له مواد مضادة للميكروبات، فمن المعروف أن خميرة الخبيز تتأثر بشدة بنوع العجين الذي يتأثر بنوع المادة الخام. ولذلك كان العلماء في هذه الدراسة حريصين على تثبيت كل العوامل التي تؤدي إلى اختلاف النتائج بحيث يكون الاختلاف راجع فقط إلى نوع المواد المضادة للميكروبات المضافة .

وقد خلصت هذه الدراسة إلى أن كل المواد الطبيعية التي تم دراستها يمكن أن تستخدم كبدائل جيدة لبروبيونات الكالسيوم في إنتاج الخبز وكان هدف الدراسة التركيز على مدى تأثير هذه المواد على الخميرة ولم تتطرق إلى مدى كفاءة هذه المواد في تثبيط نمو ميكروبات الفساد مما يعني أن هذه النقطة ما زالت تحتاج إلى إجراء المزيد من الدراسة .

إن فكرة إجراء تعديل مفيد في بروتين الحبوب أثناء العجن عن طريق التقطيع الميكانيكي الشديد هي فكرة قديمة، ولكنها لم تستخدم بنجاح وعلى نطاق واسع إلا في سنة ١٩٥٤م في الولايات المتحدة الأمريكية. و الخطوة الأولى في هذه الطريقة تشمل عمل معلق من الخميرة في محلول منظم من السكر ويترك لمدة تتراوح من ساعتين إلى أربع ساعات. بعد ذلك يخلط المعلق إلى خليط الدقيق والكيماويات التي تشمل بعض الدهون والمواد التي تحدث تغيير في بروتين الحبوب ثم ينقل العجين إلى خلاط مزود بأنصال سريعة الدوران وبذلك يتعرض العجين إلى عملية تقطيع ميكانيكية سريعة. وبعد ذلك يشكل العجين إلى شكل الأرغفة المطلوب في الصواني

لبدأ مرحلة البروفة النهائية المشار إليها في الطريقة التقليدية لصناعة الخبز ثم توضع الصواني في الفرن حتم ينضج الخبز. تستغرق هذه الطريقة ساعات قليلة وأصبحت متبعة في أكثر من نصف مصانع الخبز في الولايات المتحدة الأمريكية .

يختلف إنتاج الخبز بالطريقة الآلية في المملكة المتحدة إلى حد ما عنه في الولايات المتحدة. حيث اكتشفت الأبحاث أن العجن الكامل وذو الكفاءة العالية يمكن الوصول إليه خلال ٤–٥ دقائق بتطبيق استخدام خلاطات ضخمة يوضع فيها العجين والإضافات الكيماوية الخاصة بتعديل البروتين وبعض الدهون وتعرف هذه الطريقة بطريقة Chorleywood. تقوم الخميرة في هذه الطريقة بعملها بسعة أقل في بداية مرحلة البروفة النهائية ولذلك فمن الضروري إضافة كمية أكبر من الخميرة بالمقارنة بالكمية التي تضاف في الطريقة التقليدية. وبالإضافة إلى ذلك فإن استخدام سلالات خميرة ذات قدرة سريعة على التخمير يؤدي إلى نتائج أفضل. وما زال الخبز المصنع بطريقة Chorleywood التي بدأت في ستينيات القرن الماضي يلقى قبولاً لدى غالبية من الشعب الإنجليزي حتى الآن .

(٥,٣) تصنيع خميرة الخبيز Manufacture of baker's yeast

(٥,٣,١) الخميرة المضغوطة Pressed yeast

تختلف وتتنوع المراجع التي تصف تصنيع خميرة الخبيز المضغوطة وذلك لأن لكل مصنع خمائر مراجعه الخاصة عندما يتعلق الأمر بالتفاصيل الدقيقة بكل خطوة من خطوات التصنيع، كما أن كل منهم ولأسباب واضحة لا يرغب في أن تكون

تفاصيل الطريقة التي يتبعها معروفة لعامة الناس. وعلى أية حال فسوف نوضح فيما يلي معلومات عن تصنيع الخميرة كافية للقارئ المتخصص بل وربما للمنتج المبتدأ.

(٥،٣،١،١) بيئة النمو Growth medium

١ – المولاس Molasses

إن تصنيع خميرة الخبيز يتطلب مكان كبير، وأرباحه عادة ليست عالية ولذلك فإن الناحية الاقتصادية هي الأساس في تكوين بيئة صالحة لتكاثر الخميرة. ويتم في معظم الطرق المتبعة حالياً تنمية الخميرة على السكروز كمصدر للكربوهيدرات والطاقة، ويحصل على السكروز من المولاس وهو أحد النواتج الوسطية أو في الحقيقة أحد مخلفات صناعة السكر. واعتماداً على المكان والتكلفة هناك ثلاثة أنواع من المولاس يتم استخدامها وهي: (١) مولاس البنجر، وهو الشراب المتبقي بعد استخلاص السكروز من عصير البنجر، (٢) مولاس تصفية القصب ، الذي ينتج أثناء تنقية سكر القصب الخام، (٣) المولاس الأسود وهو الناتج الوسطي المتبقي بعد فصل السكر الخام من عصير القصب. ونظراً لأن المولاس هو في الواقع ناتج وسطي أو أحد المخلفات فإن تركيبه الكيماوي يختلف اختلافاً كبيراً من مكان إلى أخر. والجدول رقم (٥،١) يوضح التركيب الكيماوي لكل من الأنواع الثلاث .

من الواضح أن المولاس يحتوي على مواد مثبطة لنمو الخميرة، ولذلك فإن مصنعي الخميرة يجب أن يكون لديهم حذر باستمرار وإذا لزم الأمر يجب أن تتم معالجة المولاس للتخلص من هذه المواد. فعلى سبيل المثال فإن مولاس البنجر يحتوي

على نسبة من الكبريت تثبط نمو الخميرة حتى بعد تخفيف المولاس. وقد ذكر العلماء أن التأثير المثبط للكبريت يزداد كلما انخفضت درجة الـ pH. كما وجدوا أيضاً أن معالجة مولاس البنجر باستخدام فوق أكسيد الهيدروجين أو كلورات البوتاسيوم يخفض من تركيز صور الكبريت.

ومن المعلومات المفيدة أن التسخين أكثر من اللازم لمولاس قصب السكر في مصانع التكرير أو في مصانع الخميرة يؤدي إلى تكوين مركب الهيدروكسي ميثايل فيورفيورال Hydroxymethylfurfural وعلى الرغم من أن هذا المركب يثبط النمو غير الهوائي للخميرة إلا أن التهوية الشديدة والتغذية المنتظمة للخميرة تجعل هذا التثبيط غير ذي شأن. هذه الحقيقة تنطبق أيضاً على مركب إيميدوداي سلفونات البوتاسيوم Potassium imidodisulphonate الذي يتكون في مولاس البنجر في مصانع السكر عندما تتفاعل النتريت المتكونة نتيجة فعل البكتيريا مع الكبريت. كذلك فإن الأحماض الدهنية التي تشتمل على حامض الخليك وحامض البيوتيريك وحامض الفاليريك توجد أيضاً في مولاس البنجر بتركيزات مثبطة لنمو الخميرة حتى بعد تخفيف المولاس. وقد وجد أن المزج الجيد للمولاس يخفف من تأثير هذه الأحماض. والمولاس من المواد المعتمة (غير الرائقة) بسبب وجود مركبات معينة ولذلك فمن الضروري ترويق المولاس قبل استخدامه حيث أنه إذا لم يتم إزالة هذه المواد فسوف تمتصها خلايا الخميرة مما يعطيها لون أسمر غير مقبول من قبل الخبازين. وعادة ما يتم ترويق المولاس باستخدام الكيماويات المخلبية أو الملبدة التي سرعان ما ترتبط بالمواد المتسببة في العتامة وترسبها. وعلى الرغم من أن المولاس يصل إلى مصانع الخميرة وله

درجة بركس ٨٠-٨٥٪ (تعادل ٨٠-٨٥٪ سكروز) إلا أنه يخفف إلى ٣٠-٤٠٪ سكروز قبل الترويق حيث أن ذلك يسهل عملية الترويق.

الجدول رقم (٥،١). التركيب الكيماوي لمختلف أنواع المولاس.

المكونات	مولاس البنجر	مولاس التصفية	المولاس الأسود
السكريات الكلية (٪، وزن/ وزن)	٤٧-٥٨	٥٠-٥٨	٥٠-٦٥
النيتروجين الكلي (٪، وزن/ وزن)	٠.٢-٢.٨	٠.١-٠.٦	٠.٤-١.٥
أحماض الأمينية (٪نيتروجين،وزن/ وزن)	٠.٣٦	٠.٠٣	٠.٠٥
الفوسفور (٪ P_2O_5 وزن/ وزن)	٠.٠٢-٠.٠٧	٠.٠١-٠.٠٨	٠.٢-٢
الكالسيوم (٪ CaO وزن/ وزن)	٠.١٥-٠.٧	٠.١٥-١	٠.١-١.٣
الماغنسيوم (٪ MgO وزن/ وزن)	٠.٠١-٠.١٠	٠.٢٥-٠.٨	٠.٣-١
البوتاسيوم (٪ K_2O وزن/ وزن)	٢.٣-٥	٠.٨-٢.٣	٢.٦-٥
الزنك (ميكروجرام/ جرام)	٣٠-٥٠	٥-٢٠	١٠-٢٠
الكربون الكلي (٪ وزن/ وزن)	٢٨-٣٤	٢٨-٣٣	-
الرماد الكلي (٪ وزن/ وزن)	٤-١١	٣.٥-٧.٥	٧-١١
الكبريت (٪ SO_3 وزن/ وزن)	٠.٣-٠.٤	٠.٥	٠.٥
البيوتين (ميكروجرام/ جرام)	٠.٠١-٠.١٣	٠.٩-١.٨	٠.٦-٣.٢
بانتوثينات الكالسيوم (ميكروجرام/ جرام)	٤٠-١٠٠	١٦	٢٠-١٢٠

obeikandi.com

تابع الجدول رقم (٥،١).

المكونات	مولاس البنجر	مولاس التصفية	المولاس الأسود
إنوثيتول (ميكروجرام/ جرام)	٥٠٠٠- ٨٠٠٠	٢٥٠٠	٦٠٠٠
ثيامين (ميكروجرام/ جرام)	١-٤	-	١.٤-٨.٣
بيروكسيدين (ميكروجرام/ جرام)	٢.٣-٥.٦	-	٦-٧
ريبوفلافين (ميكروجرام/ جرام)	٠-٠.٧٥	-	٢.٥
نيكوتين أميد (ميكروجرام/ جرام)	٣٧-٥١	-	٢٠-٢٥
حامض الفوليك (ميكروجرام/ جرام)	٠.٢١	-	٠,٠٤

المصدر: Rose, and Harrison (1993)

٢- مركبات أخرى Other constituents

يحتوي المولاس على نسب صغيرة من العناصر النيتروجينية التي يمكن للخميرة أن تمثلها إلا أن معظم المواد النيتروجينية التي تحتاجها الخميرة تحصل عليها من المواد المضافة مثل كبريتات الأمونيوم أو كلوريد الأمونيوم ..الخ أو اليوريا أحياناً. تضاف هذه المغذيات النيتروجينية عادة على دفعات لأن إضافة كمية كبيرة دفعة واحدة يمكن أن تسبب تغير كبير ومفاجئ في درجة الـ pH . كما يضاف الفوسفور أيضاً في صورة سوبر فوسفات الكالسيوم أو فوسفات الأمونيوم أو حامض الفوسفوريك. بالنسبة لعنصر الماغنسيوم فإن المولاس عادة ما يحتوي على كمية ميسرة

obeikandl.com

وكافية للخميرة على الرغم من أنه غالباً ما يضاف في صورة كبريتات الماغنسيوم وذلك من باب زيادة الاحتياط. وإلى حد ما فإن مولاس البنجر قد يعاني من نقص البيوتين على عكس مولاس القصب ولذلك فإن بعض المصانع التي تستخدم مولاس البنجر تضيف إليه مولاس القصب بنسبة ١٠–٢٠٪ لتجنب الحصول على بيئة ناقصة البيوتين. أما بالنسبة للفيتامينات الأخرى بخلاف البيوتين فتوجد منها كميات كافية في مختلف أنواع المولاس وعلى الرغم من ذلك فإن بعض المصانع تضيف كميات صغيرة من الثيامين إلى البيئة.

٣– الإكثار Propagation

تختلف تفاصيل عمليات إنتاج خميرة الخبيز على مستوى صناعي من مصنع إلى آخر على مستوى العالم إلا أن الأساسيات واحدة في غالبية المصانع وخصوصاً عملية الإكثار. ومراحل الإكثار التي تتضح من الشكل رقم (٥،١) واحدة في جميع المصانع تقريباً.

تحتاج عملية إكثار الخميرة على المستوى الصناعي إلى خبرة في مجال الميكروبيولوجي، وهي عملية شيقة للعاملين في هذا المجال ويمكن تلخيصها فيما يلي:

١– يتم تلقيح حجم صغير من بيئة النمو المعقمة بمزرعة من سلالة الخميرة المختارة في دورق مخروطي صغير في المعمل وبعد التحضين ونمو الخميرة تنقل الكمية كلها إلى حجم أكبر في دورق أكبر ثم يتوالى نقل إلى كميات أكبر من البيئة في دوارق أكبر حتى يتم الحصول على عدة لترات من مزرعة الخميرة.

٢- عندما يصل وزن الخميرة المتحصل عليها إلى ٢٠٠ جرام يتم استعمالها كلقاح لبيئة من المولاس كميتها ١٠٠٠ كجم والمحتوية على كل العناصر الغذائية اللازمة (هذه الكمية تحتوي على حوالي نصف طن سكروز).

٣- بعد ٢٤ ساعة من النمو عند درجة تهوية معتدلة وظروف مناسبة من درجة الحرارة ودرجة الـpH فإن محصول الخميرة يصل إلى ١٩٠ كجم وهذا يمثل المرحلة الأولى.

٤- تنقل بعد ذلك كل الكمية إلى وعاء أضخم يحتوي على بيئة المولاس الكاملة وتتم التنمية أيضاً على درجة معتدلة من التهوية فينتج عن ذلك طن من الخميرة خلال ٩ ساعات لتكتمل المرحلة الثانية.

٥- في المرحلة الثالثة فإن هذا الطن من الخميرة والذي يوجد في صورة معلق يتم تغذيته بالمولاس والعناصر الغذائية وتستخدم تهوية كاملة فينتج عن ذلك ٥ طن من الخميرة خلال ١١ ساعة.

٦- بعد ذلك تفصل الخميرة عن طريق الطرد المركزي وتكون على شكل الكريمة وتحفظ في درجة حرارة منخفضة حتى يتم تقسيمها إلى خمسة أقسام متساوية ليستخدم كل قسم مرة أخرى لإنتاج ٥ طن خلال ١١ ساعة وهذه هي المرحلة الرابعة، أي أن المرحلة الرابعة هي تكرار خمس مرات للمرحلة الثالثة لينتج عنها ٢٥ طن.

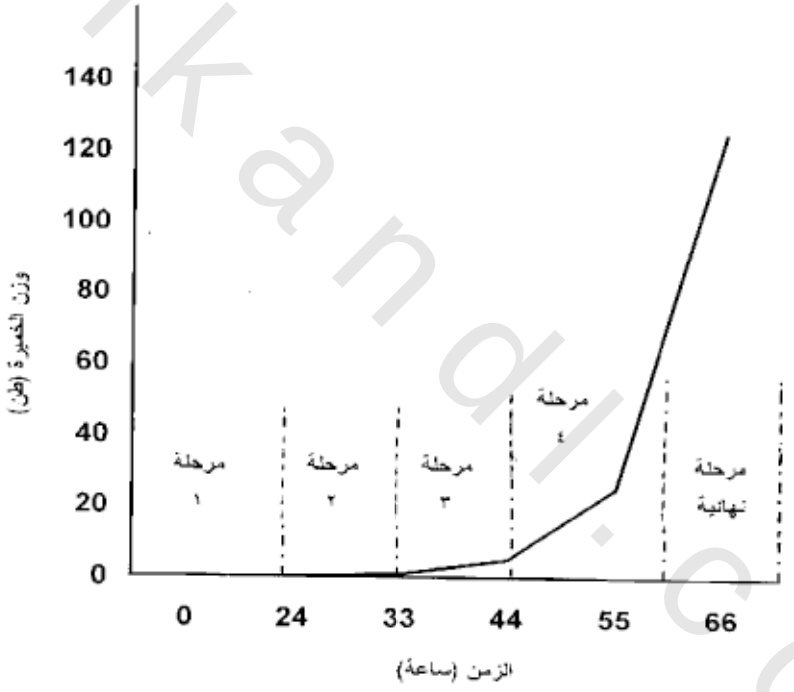
obeikandl.com

٧- يقسم إنتاج المرحلة الرابعة بالمثل إلى خمسة أقسام كل منها كميته خمسة أطنان ويستخدم كل قسم لتلقيح كمية أخرى من البيئة وتحضن لمدة ١١ ساعة فيكون الناتج النهائي ١٢٥ طن وهذه تمثل المرحلة الخامسة.

٨- توقف عملية التغذية في نهاية عمليات الإكثار الرئيسية ولكن تستمر التهوية لمدة إضافية تتراوح من ٣٠-٦٠ دقيقة وذلك لإنضاج الخميرة وهذه تسمى مرحلة الإنضاج. وأثناء الإنضاج فإن العناصر الغذائية المتبقية يتم استهلاكها بواسطة الخميرة وتستمر الخلايا في التبرعم. ومرحلة الإنضاج تعتبر هامة جداً لإنتاج الحد الأقصى من الخلايا ذات النشاط المرتفع، إلا أنه لا توجد معلومات معروفة عن الأساسيات الكيموحيوية والفسيولوجية لعملية الإنضاج على الرغم من أن علماء الفطريات الذين درسوا دورة حياة الخميرة لاحظوا أن هناك فرق بين الخلايا عندما تكون في طور الثبات وطور التأقلم. ولكن من المعلومات المفيدة المعروفة أن الخميرة تقوم بتصنيع كميات كبيرة من سكر التريهالوز ويتراكم داخل خلاياها عندما تكون الخميرة في مرحلة الإنضاج وقد سبق أن أوضحنا أهمية تراكم هذا السكر بالنسبة لحياة الخميرة واحتفاظها بحيويتها. وما يساعد على تصنيع التريهالوز بواسطة الخميرة في مرحلة الإنضاج هو توفر كمية كبيرة من الهواء وعدم وجود فرصة للتثبيط الذي قد ينتج عن توافر كمية كربوهيدرات ذائبة كبيرة.

٩- يتم في آخر خطوة وبعد عملية الإنضاج فصل الخميرة عن طريق الطرد المركزي والترشيح ثم تعبأ على شكل قوالب أو في أكياس.

ومن الجدير بالذكر أن تعقيم الأجهزة والمواد الخام والماء والهواء من العمليات الضرورية ولكن المشكلة الرئيسية بالنسبة للمهندسين هي التحكم في درجة حرارة هذا الكم الضخم من الخميرة النامية وذلك لأن هناك كمية ضخمة من الحرارة تنتجها الخميرة وخصوصاً عندما يكون الحجم المراد إكثاره كبير، فقد قدر العلماء أن كل كيلو جرام من المولاس المستهلك ينتج عنه طاقة مقدارها ٨٥٠ كيلو كالوري .



الشكل رقم (٥٠١). مراحل إكثار الخميرة.

obeikandl.com

(٥,٣,٢) الخميرة النشطة المجففة Active dried yeast

تختلف عملية إكثار الخميرة النشطة الجافة في عدة أوجه عن عملية إكثار الخميرة المضغوطة. فليس كل السلالات تصلح لكي تنتج في الصورة النشطة الجافة. وهناك دراسات كثيرة تمت بالفعل لاختيار سلالات يمكنها أن تتحمل الظروف الصعبة التي تصاحب هذه العملية وهي ظروف التجفيف ثم بعد ذلك التعرض للماء أو إعادة الماء إليها قبل استخدامها كما سبق شرحه. كما أن إكثار الخميرة بغرض إنتاجها في صورة نشطة جافة له خواص معينة أهمها أن التغذية بالمواد النيتروجينية يجب أن تكون محدودة حتى يتم خفض محتوى الخلايا المنتجة من البروتين إلى ٦-٧٪. ويتم ذلك عن طريق اختزال التغذية المتدرجة بالمواد النيتروجينية إلى النصف خلال المرحلة الأخيرة من الإكثار . وقد يرجع ذلك إلى أن العلماء وجدوا أن انخفاض محتوى الخلايا من النيتروجين يقلل محتواها من الإنزيمات المحللة وبالتالي يقلل من فرصة تكسير وتحلل الخلايا أثناء التجفيف أو إعادة الماء إليها فيما بعد .

تحصد الخميرة بعد الإكثار عن طريق الترشيح لتعطي كريمة الخميرة. تضاف في هذه المرحلة بعض المواد وتخلط جيداً بكريمة الخميرة. وقد وجد أن هذا يساعد كثيراً في احتفاظ الخميرة بنشاطه التخمري. أما المواد التي تضاف إلى كريمة الخميرة فهي عبارة عن مضادات الأكسدة مثل مادة الهيدروكسي تولوين Hydroxytoluene والبروبيل جاليت Propygallate ومادة 4-hydroxymethyl 1-2,6-dir-t-butylphenol كما تضاف أيضاً بعض الأملاح مثل كلوريد الصوديوم والميثايل سليلوز والكربوكسي ميثايل سليلوز.

وتعد استرات السوربيتان Sorbitan esters وهي مجموعة من المواد ذات السطح النشط أكثر المواد المضافة شيوعاً في الوقت الحاضر. هذه المواد متاحة الآن تجاريا ويطلق عليها Spans مثل Span 40 وهي عبارة عن Sorbitan monopalmitate وكذلك Span 80 وهي عبارة عن Sorbitan mono-oleate. و لا تضاف هذه المواد في صورة نقية في صناعة الخميرة النشطة الجافة لأسباب اقتصادية وإنما يستخدم خليط من استرات السوربيتان. ولا يعرف على وجه الدقة كيفية دور استرات السوربيتانفي الحفاظ على النشاط التخمري للخميرة الجافة. ولكن وجد أن الخميرة المضاف إليها هذه المواد تفقد كميات صغيرة من المكونات الخلوية الداخلية ذات الوزن الجزيئي المنخفض بالمقارنة بالخميرة التي لم تضاف إليها هذه المواد . وهناك دراسات تقترح أن هذه المواد المضافة ربما ترتبط بجدر خلايا الخميرة وبالتالي فهي قد تعيق معدل دخول الماء إلى الخلية عند إعادة استخدامها مما يحمي الغشاء البلازمي للخلايا من التلف .

بعد إدخال المواد السابقة إلى كريمة الخميرة فإنها ترشح مرة أخرى لتعطي عجينة سميكة القوام تصفى من خلال شاش لتعطي خيوط متصلة. هذه الخيوط تقطع وتجفف القطع ثم تعبأ في صفائح (قد تكون مفرغة الهواء ومملوءة بأحد بغاز النيتروجين) وتغلق .

(٥,٣,٣) التلوث Contamination

حيث أن خميرة الخبيز تنمى هوائياً فإن العملية تتعرض للتلوث بمستويات قليلة (مختلفة من مصنع إلى آخر) من الميكروبات الهوائية إجبارا واختياراً حتى في

أحسن المصانع. والمصدر الرئيسي للتلوث هو الهواء ولذلك فإن معظم المصانع تعمل على ترشيح الهواء قبل دخوله إلى وعاء الإكثار. والمعلومات المعروفة عن مستويات التلوث في الخميرة والمضغوطة والخميرة الجافة قليلة جداً ولكن التقارير التي قامت بعمل حصر لوجود البكتيريا في الخميرة التي تم إنتاجها، أوضحت أن عدد البكتيريا قد يصل إلى ٢ × ١٠/١٠ جرام من الخميرة .

تنتمي حوالي ٩٠٪ من البكتيريا التي وجدت في الخميرة المضغوطة للجنس *Lactobacillus* و١٠٪ تنتمي للبكتيريا المتجرثمة. وعندما توجد بكتيريا حامض اللبن بنسبة منخفضة فإنها لا تعتبر ضارة بل ربما تكون مفيدة حيث أن الحامض الذي تنتجه يثبط نمو بكتيريا أخرى. ولكن بكتيريا *Leuconostoc* spp تنتج مواد لزجة تقلل من كفاءة خميرة الخبيز.

يوجد أيضاً التلوث بالخمائر البرية وخصوصاً الخميرة *Candida* spp مثل الأنواع *Candida krusei* و *C. mycoderma* و *C. utilis* وبالإضافة إلى ذلك فقد تصاب الخميرة بالخمائر البرية *Torulopsis candida* و *Trichosporon cutaneum* و *Rhodptorula mucilaginosa*. كما أن هناك أيضاً أعفان أخرى يمكن أن تصيب الخميرة المضغوطة تنتمي للأجناس *Aspergillus* و *Penicillium* إلا أنها تنمو ببطئ شديد ولها تأثير قليل على خواص المخبوزات الناتجة.

ومن المصطلحات الجيدة التي تحدد أو ربما تضيف أسباب للتلوث هو مصطلح "الخطأ البيولوجي" أو "Biological fault"، حيث قد تحدث أخطاء بيولوجية أثناء عملية إنتاج الخميرة تؤدي إلى تلوث الخميرة المنتجة. قد تكون هذه

الأخطاء البيولوجية تغذية ببيئة النمو بمعدل أكثر أو أقل من المطلوب، وعدم وجود المواد المغذية للخميرة بالكمية الدقيقة، ونقص الأكسجين، أو إنتاج مواد سامة أثناء عملية الإنتاج. هذا بالإضافة إلى الأخطاء التي تنتج عندما لا تعمل الأجهزة المستخدمة بطريقة صحيحة، حيث تعطي معلومات مضللة عن كمية الأكسجين الذائب، عدد لفات المقلب/ دقيقة، درجة الـ pH..الخ

(٥ ,٣,٤) المواصفات Specification

كثير من الأقطار لها مواصفات قومية خاصة بالنسبة للخميرة المضغوطة والخميرة النشطة الجافة ، في حين أن معظم مصانع خميرة الخبيز لها مواصفات إضافية صارمة. والخواص التي يتم قياسها بانتظام هي محتوى الخميرة من النيتروجين والرطوبة. بالنسبة للخميرة المضغوطة فإن هذه القيم تتراوح من ٧.٥-٨٪ للنيتروجين و ٧٠-٧٥٪ للرطوبة. والقيم المقابلة لذلك في الخميرة النشطة الجافة هي ٦-٧٪ و ٧-٨٪ على الترتيب. كما يقاس أيضاً بانتظام النشاط التخمري لخميرة الخبيز، والذي قد يشمل تقدير حجم ثاني أكسيد الكربون الناتج من عجين دقيق القمح بعد تلقيحه بالخميرة تحت ظروف قياسية لمدة ساعة. ويمكن تطبيق نفس الطريقة على الخميرة النشطة الجافة. أما المقياس الآخر فيستخدم فيه عجين نشا الذرة المضاف إليه سكر المالتوز أو السكروز ثم يقاس مدى ارتفاع العجين بفعل ثاني أكسيد الكربون، وتستخدم اسطوانات خاصة لقياس هذا الارتفاع.

(٥,٤) تداول الخميرة المضغوطة والخميرة النشطة الجافة

Handling of pressed yeast and active-dried yeast

تستخدم الخميرة المضغوطة في الغالبية العظمى من المخابز الموجودة في المناطق المعتدلة من العالم والتي تحتوي عل ٢٥٪ (وزن/ وزن) ماء ولها قوام يشبه المعجون. ويسهل خلط وتقليب الخميرة المضغوطة مع العجين كما سبق توضيحه. ولكي تصل الخميرة إلى المخابز فإنها عادة ما تضغط على شكل قوالب أو تعبأ في أوعية من البلاستيك أو الورق. يجب حفظ هذه العبوات في الثلاجات لأن حفظها على درجة حرارة أعلى من ١٠°م سوف يؤدي إلى تمثيل الكربوهيدرات والتي بدورها تنتج حرارة.

للخميرة المضغوطة عمر تخزيني أو مدة صلاحية قصيرة جداً عادة لا تتعدى أسبوع حتى لو حفظت في الثلاجة. وبسبب قابلية هذا المنتج للتلف فقد اتجه اهتمام البحث العلمي منذ حوالي ٥٠ سنة إلى إنتاج خميرة خبيز جافة لها مدة صلاحية طويلة دون الحاجة إلى الحفظ في الثلاجة. وباختصار شديد فإن الخميرة الجافة النشطة تنتج عن طريق نزع الماء من الخميرة عن طريق الضغط تحت ظروف متحكم فيها ثم تخلط مع مواد حامية Protective compounds للخلايا ليتم الحصول على معلق يحتوي على ٦-٨٪ (وزن/ وزن) ماء. ويسمى هذا المنتج بالخميرة النشطة الجافة Active Dry Yeast (ADY) . وقد كانت الخميرة النشطة الجافة ذات نشاط منخفض في بداية تصنيعها ثم حدث تطور في صناعتها بعد ذلك في ألمانيا خلال الحرب العالمية الأولى ولكن أول إنتاج منها كان في أستراليا في أوائل أربعينيات القرن الماضي وبنشاط مقبول

ولكن ظروف الحرب العالمية الثانية قادت إلى تغيير حقيقي في إنتاج الخميرة النشطة الجافة مما أدى إلى الحصول على عدة أنواع منها مثل الخميرة النشطة الجافة الفورية Instant Active Dry Yeast (IADY) والجزيئات الصغيرة للخميرة النشطة الجافة Small Particle Active Dry Yeast (SPADY) التي تحتاج إلى إعادة تعليقها في ماء دافئ قبل خلطها بالعجين في حين أن الـ IADY لا تحتاج إلى هذه المعاملة. وقد وجد أن الـ IADYتفقد حيويتها في وجود الأكسجين ولذلك فهي تحتاج إلى التعبئة تحت تفريغ أو تعبأ في وجود غاز خامل مثل النيتروجين. وعلى الرغم من ذلك فإن استخدام الخميرة المضغوطة في إنتاج الخبز ما زال هو المفضل في المناطق المعتدلة من العالم.

ولا شك أن عملية تجفيف الخميرة قد تفقدها حيويتها إذا لم تتم بطريقة صحيحة. ولذلك فقد أجريت دراسات لمعرفة الآلية التي قد تؤدي إلى نقص حيوية الخميرة أثناء تجفيفها. وجد Bayrock و Ingledew (١٩٩٧م) أن درجة رطوبة الخميرة تلعب دوراً كبيراً في حيويتها أثناء التجفيف، حيث وجد أن الخميرة المضغوطة المحتوية على رطوبة أقل من ١٥٪ أثناء التجفيف، يحدث فقد حاد في عدد الخلايا الحية، في حين أن حرارة التجفيف لا تؤثر في حيوية الخميرة عندما تكون الرطوبة أعلى من ١٥٪، شريطة ألا تزيد درجة الحرارة المستخدمة في التجفيف عن ٥٠°م، حيث أن التجفيف على درجة حرارة أعلى من ٥٠°م مع وجود رطوبة عالية يجعل الحرارة قاتلة للخميرة. كما وجد أيضاً أن إضافة سكر التريهالوز إلى معلق الخميرة يؤدي إلى زيادة في الحيوية تقدر بنحو ٣٠٪ مقارنة بالعينة الضابطة التي لم يضاف إليه سكر التريهالوز.

وتستخدم الخميرة النشطة الجافة بعد إعادة تعليقها في ماء على درجة حرارة من ٣٨-٤٣°م. ويجب ملاحظة أن استخدام الماء البارد (١٠-١٥°م) يجعل الخميرة تفقد قدرتها التخميرية، ويصاحب ذلك انطلاق مركبات ذات وزن جزيئي منخفض من الخلايا ونقص في حجمها. وعلى أية حال فإن استخدام الخلايا النشطة الجافة في صناعة الخبز ما زال إلى حد الآن يحتاج إلى مزيد من التطوير على الرغم من نجاح هذا المنتج في أنواع أخرى من التخمر.

(٥,٥) الصفات المرغوبة في خميرة الخبيز Desirable properties in baker's yeasts

عملياً فإن كل الخمائر المستخدمة في تخمير عجين الخبز هي سلالات للخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. ولم تجر أية محاولات جادة لاستبدال سلالات هذا النوع بنوع آخر من الخمائر. ولذلك فإن هذه الخميرة تستحق أن نتأمل أسباب سيادتها كخميرة خبيز. فالخبز هو أحد المكونات الرئيسية لغذاء الإنسان، ويتبع ذلك أن أي مكون يدخل في تركيب الخبز لابد أن يكون مقبول من ناحية السمية. وقد أثبتت الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* قبولها الكامل كعنصر غذائي حيث أن هذه الخميرة يتناولها الإنسان ولو بكميات قليلة مع البيرة منذ عدة آلاف سنة ولذلك فإن لدينا كل الأسباب التي تجعلنا نعتقد أنه لا يوجد على الإطلاق أي تأثير ضار لخلايا خميرة الخبيز على الإنسان. وأكثر من ذلك فإن هذه الخميرة أثبتت من وقت إلى آخر أنها ميكروب قوي وثابت ولا يوجد اختبار لقوتها أحسن من ملاحظة أنها ظلت على مدى آلاف من السنين تستخدم في صناعة البيرة ويتم نقلها من تخمر إلى التالي في مناخ دول الشرق

الأوسط شديد الحرارة والذي يصعب على أي ميكروب آخر أن يتحمله دون أن يفقد حيويته أو بعض خصائصه. وبالنسبة لقدرة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* على تحمل الجوع فقد أمكن قياسها كمياً عن طريق تقدير قيمة الشحن التي يطلق عليها Adenylate charge. ويتم تقدير هذه القيمة بقياس إلى أي مدى يمكن لمركب AMP أن يشحن بروابط فوسفات غنية بالطاقة في شكل المركبات ADP و ATP. وفي جدول قياسي مدرج من صفر إلى واحد صحيح فإن الميكروبات شديدة النمو لها Adenylate charge من ٠.٧ إلى ٠.٨ وعندما لا توجد عناصر غذائية فإن كل الميكروبات تقريباً تموت وتنخفض قيمة الـ Adenylate charge إلى ٠.٤ إلا في حالة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* فإنها لا تموت حتى عندما تنخفض قيمة الـ Adenylate charge الخاصة بها إلى ٠.١٥

وهناك أمثلة كثيرة أخرى يمكن ذكرها للاستدلال على قوة ميكروب الخميرة ولكننا سوف نذكر أحدها فقط وهو الغسيل بالحامض. فعلى مدى سنين عديدة يعرف منتجي الخمور أن لقاحاتهم من الخميرة تتلوث بالبكتيريا ويصل التلوث إلى مستويات غير مقبولة وهناك طريقة يعرفها منتجي الخمور للتخلص من البكتيريا الملوثة للخميرة وهي طريقة الغسيل بالحامض. هذه الطريقة تشتمل على غسيل خميرة اللقاح بمحلول ١٠٪ (حجم/ حجم) من حامض الفوسفوريك أو حامض الكبريتيك ومع ذلك تبقى خميرة *Saccharomyces cerevisiae* على قيد الحياة. وعلى أية حال إذا أمكن تبرير سيادة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* كخميرة خبيز مثالية عن طريق مصطلحات علمية موجودة بالفعل فإن هذا يعني أن الكيمياء الحيوية ووراثة الخميرة

قد تم فهمهما جيدا وهذا سوف يجعل المهتمين بتقنية الخميرة في وضع يسمح لهم بالوصول إلى خميرة مثلى من الناحية الوراثية.

(٥,٥,١) خصائص عامة General properties

إذا توفرت سلالة من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* مثالية لصناعة الخبز فإنها المتطلبات التي يجب أن تكون متوفرة في هذه الخميرة دائماً ما تكون مختلفة باختلاف الخبز المراد إنتاجه. إن العجائن التي تستخدم في كل أنحاء العالم وكذلك أنواع الخبز المطلوبة دائما ما تكون متنوعة جداً. ونفس الشيء بالنسبة للمواد المضافة إلى العجين وبالنسبة لدرجات حرارة العجن وكذلك الخبيز. هذا يعني أن هناك اختلاف كبير بين سلالات خميرة الخبيز بحيث أن كل سلالة تناسب خبز معين ونظام خبيز معين وكما ذكر Evans (١٩٩٠م) "لا يوجد شيء مقدس عندما يتعلق الأمر بسلالات خميرة الخبيز". ولكن توجد خصائص عامة بالنسبة لسلالات الخميرة المستخدمة في صناعة الخبز نوردها فيما يلي :

(٥,٥,١,١) معدل التخمر في العجين Fermentation rate in dough

يحتاج الخبازون بصفة عامة إلى سلالات خميرة تقوم بتخمير السكر بمعدلات عالية. كما يحتاجون أيضاً إلى خميرة تستطيع أن تحلل السكريات الثنائية مثل المالتوز والسكروز والجلوكوفركتان. يتحكم في معدل التخمر الذي تقوم به الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* مجموعة إنزيمات في الخلية ومدى نفاذية الغشاء

الخلوي والبروتينات التي تقوم بعمليات تنظيمية في الخلية. فبمجرد أن يتحلل السكروز مثلاً بواسطة إنزيم الإنفرتيز فإن المواد الناتجة عن التحليل (سكريات سداسية) وكذلك سكر المالتوز (الذي يتحلل داخل الخلية) تنتقل إلى داخل خلية الخميرة بواسطة البروتينات الناقلة والتي تسمى Permeases والتي توجد في الغشاء الخلوي وبعد ذلك فإن السكريات المنتقلة تهدم إلى خليط من الإيثانول وثاني أكسيد الكربون عن طريق مسار إيمدين مايرهوف المعروف جيداً لدى كل المهتمين بالميكروبيولوجي والكيمياء الحيوية.

ويعتقد بصفة عامة (ولكن بدون مبررات قوية) أن معدل تخمر العجين بواسطة الخميرة Saccharomyces cerevisiae يتحكم فيه معدل تحلل السكروز ومعدل انتقال المالتوز ونواتج تحلل السكروز إلى داخل الخلية. وكما أوضحنا فإن إنزيم الإنفرتيز مطلوب لتحليل السكروز، وتصنيع إنزيم الإنفرتيز بواسطة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* يتحكم فيه عائلة SUC من الجينات. وبصفة عامة فإن سلالات الخميرة المستخدمة في صناعة الخبز لها نشاط عالي بالنسبة لتصنيع إنزيم الإنفرتيز.

كذلك فإن هناك أبحاث كثيرة وجهود كبيرة بذلت لاختبار مقدرة خميرة الخبيز على إنتاج إنزيم المالتيز وهو الإنزيم المسئول عن تحلل سكر المالتوز وكذلك اختبار وجود البروتينات الناقلة لسكر المالتوز إلى داخل الخلية لكي يحدث اتصال بينه وبين هذا الإنزيم الداخلي. وقد وجد أن جينات العائلة MAL هي المسئولة عن إنتاج إنزيمات المالتيز التي تؤدي إلى استفادة الخميرة من سكر المالتوز. وإنزيمات المالتيز

بعضها Constitutive وبعضها الآخر مستحث Inducible ويعتمد النشاط النسبي لهذان النوعان على تركيب العجين وعلى سرعة التخمر. وقد يحدث تأخر في نشاط الإنزيمات المستحثة Inducible في بداية التخمر ولذلك أجريت دراسات وراثية خاصة باستنساخ الجين MAL6 مما أدى إلى إنتاج سلالة من الخميرة لا تتأخر فيها عملية تحلل سكر المالتوز في بداية التخمر، حيث يتم في هذه العملية دمج جينات وبروتينات نقل المالتوز من أحد سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* مع ناقلات جديدة من سلالة أخرى لنفس الخميـرة ثم يتم إعادة الجينات والناقلات إلى السلالة الأصلية مع قطع صغيرة من الحامض النووي DNA المخلق. وهذا الحامض النووي المخلق يمنع أو يقلل من إنتاج أي بروتين هجين من شأنه أن يؤخر تحلل المالتوز.

وقد عرف العلماء أن جينات عائلة MAL تسبب أيضاً تراكم للسكر الثنائي تريهالوز Trehalose الذي يلعب دور أساسي في حفظ الخميرة والحفاظ على ثباتها، فخلال تجمع وتراكم سكر المالتوز إلى داخل الخلية يتراكم سكر التريهالوز. وتفسير ذلك هو أنه بمجرد انتقال المالتوز إلى داخل الخلية وتحلله إلى جلوكوز فإن جزء من هذا الجلوكوز تستخدمه الخلية في تصنيع سكر التريهالوز بالإضافة إلى تكون مركبات ATP الغنية بالطاقة. إلا أن العلاقة بين الاستفادة من المالتوز وتصنيع التريهالوز لا تعتمد بشكل كلي على مدى توفر المالتوز وإنما يكفي توفر الجين الوراثي MAL لكي يتم تصنيع وتراكم التريهالوز.

(٥،٥،١،٢) الحفاظ على الجودة Keeping quality

يعلم الغالبية العظمى من الخبازين أنه يجب حفظ الخميرة المضغوطة دائماً في الثلاجات. وعلى الرغم من ذلك فإن قدرة الخميرة على إحداث تخمر الخبز تنخفض مع مرورالوقت وذلك لأن لها مدة صلاحية محدودة. وفقد الخميرة لقدرتها التخميرية، ليس بالضرورة يرجع إلى موتها وتحلل خلاياها وإنما قد يكون ناتج عن عدم نشاط إنزيمات عملية تحلل الجلوكوز Glycolysis وعدم نشاط المواد الناقلة والبروتينات التي تنظم التفاعلات في خلايا الخميرة.

وتحتوي الخميرة *Saccharomyces* cerevisiae مثل أنواع الخميرة الأخرى على عدد من إنزيمات البروتينيز بعضها متخصص بدرجة أكبر من البعض الآخر، ولذلك فمن الممكن أن بعض هذه الإنزيمات المتخصصة يكون قادراً على تحليل بعض ناقلات السكر وبعض إنزيمات عملية تحلل الجلوكوز Glycolysis أثناء فترة التخزين. كذلك فإن من المعروف أن سلالات الخميرة *Saccharomyces* cerevisiae تختلف فيما بينها في الاحتفاظ بقدرتها التخميرية عند درجات الحرارة المنخفضة. وعلى أية حال فإن حيوية ونشاط الخميرة المضغوطة يمكن ضمانها بوجود مخزون كبير من المواد الكربوهيدراتية داخل الخلية أثناء التخزين. ومن أهم المواد التي تحافظ على حيوية ونشاط الخميرة أثناء التخزين سكر التريهالوز حيث لاحظ العلماء أن تراكم هذا السكر في الخلية يتناسب طردياً مع حيويتها ونشاطها بعد تخزينها لفترة من الزمن.

openkandil.com

(٥،٥،١،٣) اللون والتماسك Colour and consistency

الخميرة المضغوطة لها لون بني فاتح وهذا اللون يأتي من المولاس المستخدم في تصنيع خميرة الخبيز، والحقيقة أن تكلفة تنظيف الخميرة من لون المولاس تعتبر عالية جداً. وبصفة عامة فإن الخبازين يفضلون الخميرة ذات اللون الفاتح، والحقيقة أن أحد الأسباب الداعية إلى التفكير في استخدام مواد خام أخرى غير المولاس (مثل الشرش) لإنتاج خميرة الخبيز هو التخلص من لون المولاس.

وعندما يتم وضع الخميرة المضغوطة في الماء فيجب أن يتم ذلك بسرعة لتعطي معلق لبني متناسق، ولكن هذا لا يحدث وإنما يحتوي المعلق على مواد محببة يعرفها الخبازون بالحصى Grits. وتوجد طرق لتقدير كمية الحصى في معلقات الخميرة، وبصفة عامة فإن تكوين هذا الحصى في معلقات الخميرة يعتمد على سلالة الخميرة ويتأثر بظروف التخزين، كما يتأثر بالقوى الأيونية للمحلول الذي يتم فيه تعليق الخميرة. وقد وجد العلماء أن تكوين هذا الحصى يمكن منعه بإضافة حامض السيستئين في معلق الخميرة.

(٥،٥،١،٤) المقاومة للمواد الحافظة Resistance to preservatives

من المعروف جيداً أن الأعفان تنمو على الخبز، ولكي يتم منعها من النمو على الخبز وخصوصاً الخبز المصنع على شكل شرائح تضاف مثبطات الأعفان التي غالباً ما تكون أحماض قصيرة السلسلة إلى العجين. تشمل هذه المثبطات على الخل و ثاني خلات الصوديوم Sodium diacetate وتعتبر البروبيونات أكثر مثبطات الأعفان

استخداماً حيث تضاف في صورة أملاح الصوديوم أو الكالسيوم. ولكي يتم منع نمو الفطريات بدرجة معقولة من الكفاءة يجب أن تضاف البروبيونات إلى العجين بتركيز يتراوح من ٠.٢ إلى ٠.٣٪ من وزن العجين إلا أن إضافتها بهذا التركيز المنخفض يمكن أن يثبط نمو ونشاط الخميرة في العجين. ولا يعرف على وجه الدقة كيف تقوم البروبيونات بتثبيط نشاط الخميرة، ولكن يعتقد بصفة عامة أن البروبيونات تدخل إلى خلايا الخميرة في شكل غير ذائب عن طريق الانتشار كما يحدث بالنسبة لكثير من الأحماض قصيرة السلسلة. ودخول أي حامض ضعيف مثل البروبيونات إلى داخل خلية الخميرة ربما يؤدي إلى تثبيط قوة تحفيز البروتونات Proton-motive force التي توجد في الغشاء البلازمي للخلية فينتج عن ذلك أن أي خميرة يعتمد نشاطها على قوة تحفيز البروتونات سوف تتأثر. وعلى أية حال ما زال هناك نوع من الجدل العلمي حول آلية تثبيط نشاط الخميرة بواسطة البروبيونات ويتوافق هذا الجدل مع التقارير التي أشارت إلى أن البروبيونات تثبط تخمر سكر المالتوز بواسطة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*.

وتتعقد عملية استخدام البروبيونات في تصنيع الخبز بدرجة أكبر إذا ما أخذ في الاعتبار الحقيقة العلمية التي مؤداها أن مقاومة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* للبروبيونات تختلف اختلافاً كبيراً من سلالة إلى أخرى. والحقيقة أن منتجي الخبز من غير ذوي الخبرة قد يحدث لهم ضرر كبير إذا ما قررت السلطات التشريعية إدخال البروبيونات كمادة حافظة إلى عجين الخبز وذلك عندما تكون السلالات المستخدمة ليست مقاومة لهذه المادة. وليس من المعروف لماذا توجد سلالات من الخميرة

Saccharomyces cerevisiae مقاومة للبروبيونات وأخرى غير مقاومة. ولمعرفة ذلك فربما يكون من المفيد الرجوع إلى البيانات المتاحة والخاصة بتأثير بعض الأحماض الأخرى قصيرة السلسلة على نشاط الخميرة. ولكن المعلومات المتاحة عن البروبيونات تقترح أن البروبيونات تدخل إلى خلية الخميرة في صورة غير مفككة (غير متأينة) ونظراً لأن قيمة الـ pH داخل الخلية عالية (حوالي ٦.٥) فإن جزء من البروبيونات يتفكك مما يزيد من تركيز أيون الهيدروجين داخل الخلية والذي يؤدي إلى تثبيط قوة تحفيز البروتونات في الغشاء البلازمي كما سبق الإشارة إليها، وهذا يعتمد على السعة التنظيمية التي تختلف من خلية إلى أخرى. وعلى ذلك يمكن تفسير قوة مقاومة بعض سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* لفعل البروبيونات المثبط بأن هذه السلالات لها سعة تنظيمية عالية داخل الخلية أي أن رقم الـ pH داخل الخلية لا يتغير بسهولة. كما أن هناك تفسير آخر يعتمد على البيانات المتوفرة عن تأثير الكبريتيت على الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* والتي أظهرت أن التركيب الدهني للغشاء البلازمي المتمثل في وجود الفوسفوليبيدات يؤثر سلباً على انتشار هذا الحامض قصير السلسلة خلال الغشاء البلازمي. وعلى ذلك فإن هناك اختلاف بين سلالات الخميرة في السماح لهذه الأحماض بالدخول إلى الخلية حسب الاختلاف في تركيب الغشاء البلازمي وكمية الفوسفوليبيدات الموجودة. ويقترح العلماء أن نفس التفسير يمكن تطبيقه على البروبيونات.

(٥،٥،١،٥) تحمل الضغط الأسموزي العالي Tolerance of high osmotic pressures

إن تحضين خميرة الخبيز مع الرج في بيئة غذائية مكتملة تحتوي على سكريات قابلة للتخمر عند درجة pH ٥ وعند درجة حرارة ٢٥°م يسمح للخميرة بالنمو السريع. وعندما تنمو الخميرة خارج هذه الظروف المثلى فإنها تواجه ظروف قاسية. وعلى ذلك فإن خميرة الخبيز قد تواجه ظروف بيئية قاسية مختلفة أثناء الإنتاج الصناعي، مثل الضغط الأسموزي العالي للملح والمواد المضادة للميكروبات والتي تضاف بغرض تثبيط ميكروبات الفساد. يبحث الخبازون دائماً عن خمائر بدون طور تأقلم في النمو والذي قد يحدث نتيجة الظروف القاسية السابق الإشارة إليها. وبالطبع إن وجود طور لاجي لخميرة الخبيز سوف يؤخر في عملية إنتاج الخبز مما يسبب خسارة اقتصادية كبيرة. وبالطبع فإن الخميرة في صورتها الحية لا يمكن استبدالها بأي مكون آخر ليقوم بوظيفتها في العجين. ولذلك فإن معرفة عوامل الإجهاد التي تتعرض لها الخميرة لها أهمية شديدة لفهم كيفية تكيف الخميرة مع هذه الظروف والتغلب عليها.

يعتبر الخبز الحلو Sweet breads المفضل لدى المستهلك في كثير من الدول الآسيوية بما فيها اليابان. ولذلك يتم إدخال سكريات إضافية إلى العجين عادة ما تكون سكروز تؤدي إلى خفض النشاط التخمري للخميرة وهذا يفسر لماذا تضاف كمية كبيرة من الخميرة إلى عجين الخبز الحلو ولماذا يحتاج هذا النوع من العجين إلى مدة أطول لكي يتم التخمر. وعلى الرغم من أنه ليس من السهل الحصول على بيانات تجريبية لإثبات هذه النقطة إلا أنه بصفة عامة يمكن القول أن انخفاض النشاط

التخمري في العجائن التي تحتوي على كميات كبيرة من السكر يرجع إلى انخفاض النشاط المائي في هذه العجائن. ويمكن لكثير من الميكروبات بما فيها الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* أن تتحمل البيئات التي تنخفض فيها كمية الرطوبة. ويميل الماء في أي بيئة من هذا النوع إلى الاتجاه خارج الخلية أي أنه في البيئات ذات الضغط الأسموزي العالي يتجه الماء من التركيز الأقل إلى التركيز الأعلى مما يؤدي إلى جفاف الخلايا مما يفقدها حيويتها ونشاطها. وتحمل بعض الميكروبات لمثل هذه الظروف يشتمل على تراكم بعض المواد داخل الخلية والتي ترتبط بالماء وتمنعه من مغادرة الخلية. ويعتبر الجلسرول في خميرة *Saccharomyces cerevisiae* المادة التي تتراكم داخل الخلية وتمنع الماء من مغادرة الخلية في حالة وجود تركيز عالي من السكر في العجين .

ولقد تم عمل اختبارين رئيسيين لحل مشكلة مقاومة الخميرة للضغط الأسموزي المرتفع. معظم سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تمتلك إنزيم الإنفرتيز الذي يحلل السكروز إلى خليط من الجلوكوز والفركتوز. وفي العجين الذي يحتوي على سكروز إضافي فإن فعل إنزيم الإنفرتيز على هذا السكر يزداد بدرجة تفوق زيادة الضغط الأسموزي حتى أن بعض العاملين يختارون سلالات من خميرة الخبيز ذات نشاط محدود بالنسبة لإنزيم الإنفرتيز. وقد جرت محاولة ناجحة لمعاملة الخميرة بالحامض قبل ضغطها وتجفيفها بغرض تقليل نشاط إنزيم الإتفرتيز وهذا هو الاختبار الأول .

ويعتمد الإختبار الثاني على تعريض الخميرة خلال المراحل الأخيرة من النمو إلى تركيز عالي من الملح الذي يشجع الخميرة على تصنيع الجليسرول الذي يحميها ضد الضغط الأسموزي المرتفع.

(٥،٥،١،٦) مقاومة التجميد Resistance to freezing

هناك اتجاه متزايد في السنوات الأخيرة نحو استخدام عجائن متجمدة تحتوي على الخميرة. ويوجد إقبال كبير من المستهلكين على هذا المنتج الجاهز للتخمير ثم الخبيز. ولكي يستمر نجاح هذا المنتج فإن المطلوب أن يكون له مدة صلاحية تصل إلى ستة أشهر. وقد اعتاد كثير من المنتجين على إنتاج العجين المتجمد بشكل تجاري. والطرق المستخدمة في التجميد عادة ما تستغرق من ساعة إلى ساعتين حتى تصل درجة حرارة التجميد إلى – ٢٠°م. ويفقد العجين أثناء تخزينه في الصورة المتجمدة بعض من قدرته التخميرية. ولهذا السبب يجب زيادة أعداد الخميرة في العجين الذي سوف يتم تجميده لتصل إلى ١–٢٪ (وزن/ وزن). كما يتم أيضاً إدخال مواد مضافة إلى العجين مثل لاكتات الصوديوم أو مسحوق اللبن الفرز أو الميثايل سليلوز أو الأحماض الأمينية أو حامض الأسكوربيك وكلها مواد تضاف لحماية الخميرة من درجة الحرارة المنخفضة .

ومن المعلومات المفيدة أنه تمت دراسات لعزل أو هندسة سلالات من خميرة الخبيز لها القدرة على الاحتفاظ بنشاطها التخمري على درجات حرارة التجميد، إلا أن المعلومات المعروفة عن فسيولوجيا فقد النشاط التخمري قليلة وبالتالي فإن

المعلومات المتوفرة عن المواد التي تنتجها الجينات لزيادة مقاومة الخميرة لدرجة التجميد ليست كثيرة. وقد يكون تغير درجة الحرارة أثناء التجميد والذوبان هو الذي دفع العلماء إلى الاعتقاد أن سيولة الغشاء البلازمي ربما تلعب دوراً هاماً في مقاومة الخميرة لعملية التجميد. وباستخدام تقنيات إغناء الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* بمركبات دهنية واسترولات أوضح العلمـاء أن الخميرة المعاملة والتي تعرضت لدورات من التجميد ولإذابة استطاعت أن تستعيد قدرتها التخميرية.

على أية حال يبدوا أن طفرات الخميرة المقاومة للتجميد تصلح بدرجة كبيرة لإنتاج العجين المتجمد، ولكن لا يمكن في الوقت الراهن إعطاء حكم قطعي في هذا النقطة، حيث أنها مازالت قيد البحث حسب رأي عدد كبير من علماء الميكروبيولوجي والوراثة .

(٥،٥،١،٧) القدرة على تخمير سكريات جديدة

Ability to ferment novel saccharides

تحتاج صناعة خميرة الخبيز إلى حجم كبير في المكان وهي بصفة عامـة منخفضـة الأربـاح ولذلك فإن المصنعين دائماً ما يبحثون عن الوسائل التي تؤدي إلى زيادة كفاءة التصنيع وتقليل التكلفة. ولقد كانت الاستفادة من سكريات المولاس بكفاءة عالية هدف يسعى إلية المنتجون دائماً ورغم أن هذا قد تحقق بالفعل فإنه دائما ما يكون هناك محاولات للحصول على مزيد من الاستفادة الممكنة. وتشير المراجع إلى أن هناك محاولات دائمة لجعل الخميرة تستفيد بأكبر كمية ممكنة من سكر المالتوز عن طريق

زيادة كفاءتها في إنتاج إنزيم المالتيز، كذلك فإن هناك سكر آخر يلقى اهتمام كبير وهو سكر الرافينوز. يوجد هذا السكر الثلاثي (فركتوز–جلوكوز–جلاكتوز) في مولاس البنجر بنسبة حوالي ١.٥٪ (وزن/ وزن). وقد وجد أن الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تستطيع أن تفسخ سكر الفركتوز من سكر الرافينوز وتمثله ولكنها غير قادرة على تمثيل السكر الثائي المتبقي بعد نزع الفركتوز من الرافينوز وهو سكر الملييوز. ولذلك فإن إنتاج سلالات من خميرة الخبيز قادرة على تخمير الملييوز يمكن أن يزيد الكتل الحيوية من الخميرة المنتجة من مولاس البنجر بمقدار ٢–٣٪. ويرى العلماء أنه من السهل إنتاج خميرة خبيز قادرة على الاستفادة من الملييوز وذلك لأن هناك سلالات أخرى معروفة من الخميرة *Saccharomyces* spp لها القدرة على تصنيع إنزيم الملييبيز Melibiase. وقد أمكن استنساخ عدد كبير من الجينات في الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تمكن الخلايا من تمثيل عدد من السكريات قليلة (الأوليجية) وعديدات التسكر.

سكر اللاكتوز من أرخص السكريات التي لها سيادة على المستوى الصناعي. ويوجد هذا السكر الثنائي في الشرش (أحد النواتج الوسطية لصناعة الجبن). وقد بذلت جهود ومحاولات جادة لاستخدام الشرش كمادة خام لإنتاج خميرة الخبيز . وللأسف فإن سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* غير قادرة على تمثيل سكر اللاكتوز لأن ليس لديها الجينات الخاصة بكل من ناقلات اللاكتوز إلى داخل الخلية وإنزيم البيتا–جلاكتوسيديز الذي يحلل اللاكتوز إلى الجلوكوز والجلاكتوز وكل منهما سكر أحادي تستطيع الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* أن تمثله. وهناك عدة

خمائر أخرى يمكنها أن تخمر سكر اللاكتوز، ومن أهمها الخميرة *Kluyveromyces lactis*. استطاع العلماء في سنة ١٩٨٥م استنساخ الجينات المسئولة عن نقل اللاكتوز إلى داخل الخلية والمسئولة عن إنتاج إنزيم البيتا-جلاكتوسيديز من الخميرة *Kluyveromyces lactis* ثم نقل هذه الجينات إلى الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وكانت هذه هي إحدى خطوات إنتاج خميرة خبيز قادرة على الاستفادة من اللاكتوز. إلا أن السلالة المنتجة بواسطة هؤلاء العلماء كانت بطيئة النمو وذات كفاء تخميرية منخفضة، وليس من المناسب استخدامها كخميرة خبيز ولكن إنتاجها جعل من الممكن تطوير سلالات أخرى ذات كفاءة عالية.

كذلك بذلت مجهودات كبيرة نحو تنمية خميرة الخبيز على النشا الذي يتوفر بكميات كبيرة في أماكن كثيرة من العالم. ومن المعروف أن سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* ليس لديه القدرة إلى تحليل الأميلوز أو الأميلوبكتين إلى مالتوز وهذا دفع كثير من العلماء إلى التفكير في استنساخ الجينات المسئولة عن إنتاج الإنزيمات المحللة للنشا من ميكروبات أخرى ثم نقلها إلى الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. وهناك محاولات عديدة نجحت في هذا الصدد على الرغم من أن هناك مشاكل تصاحب هذه العملية لا يتسع المجال لذكرها.

(٢,٥,٥) صفات إضافية مطلوبة في الخميرة النشطة الجافة

Additional properties required in active yeast

إن سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* المستخدمة في إنتاج الـ ADY

أو الـ IADY قد تم اختيارها في ظل غياب الفهم الكامل لخواصها الفسيولوجية والكيموحيوية التي تسمح لخلايا الخمير بأن تحتفظ بحيويتها عندما يتم تجفيفها أو نزع الماء منها. والحقيقة أن كثير من السلالات المستخدمة في إنتاج خميرة الخبيز النشطة الجافة هي في الواقع مشابهات أو يمكن القول نسخ من السلالة رقم 7752 من ATCC (American Type Culture Collection). هذه السلالة لها خلايا ذات حجم أكبر من حجم خلايا الخميرة المضغوطة وتعطي إنتاج أفضل من نفس كمية السكر المتاحة .

وقد تم اكتشاف خاصتين (على الأقل) هامتين تمنحان خلايا الخميرة المقدرة على الاحتفاظ بنشاطها عندما تستخدم لإنتاج الخميرة النشطة الجافة. الخاصية الأولى هي أن السلالات التي تحتوي على مستوى منخفض من الجلوتاثيون Glutathione هي المفضلة في إنتاج الخميرة النشطة الجافة حيث أن وجود هذا الببتيد الثلاثي يسبب بطئ في عملية العجن. أما الاكتشاف الثاني فهو أن احتفاظ الخميرة النشطة الجافة بمستوى جيد من حيويتها ونشاطها يرتبط بمحتوى الخلايا من سكر التريهالوز الذي يجب أن يكون ١٢٪ (وزن/ وزن) أو أكثر. ويعتقد أن سكر التريهالوز يلعب دوراً في الحفاظ على سلامة الغشاء الخلوي أثناء تجفيف ونزع الماء من الخلايا وذلك عن طريق إحداث تعديل أو تغيير في الخواص الفيزيائية للفوسفوليبيدات الموجودة في الغشاء الخلوي. وهذا التأثير يرجع تكوين رابطة بين السكر الثنائي تريهالوز وبين بعض مكونات المجموعات القطبية في الفوسفوليبيدات. يسبب تكون هذه الروابط إزاحة للماء من حول المجموعات القطبية للفوسفوليبيدات مما يقود إلى زيادة ثبات الخلية. وهكذا

خلص العلماء إلى أن وجود كمية كافية من سكر التريهالوز داخل خلايا خميرة الخبيز الجافة النشطة يجعلها قادرة على الاحتفاظ بنشاطها بعد التجفيف .

على كل حال إذا أراد العلماء فهم أعمق للخصائص التي تجعل سلالات الخميرة مثالية لإنتاج خميرة الخبيز النشطة الجافة فلابد من إجراء مزيد من الدراسات على فسيولوجيا عملية التجفيف ثم عملية إعادة تعليقها في الماء الدافئ قبل إضافتها إلى العجين. فعندما تتحول خلايا الخميرة إلى صورة نشطة جافة ثم بعد ذلك يتم عمل معلق منها في ماء دافئ فإنها في الحقيقة ومن الناحية الفسيولوجية تتعرض إلى إجراءات مؤلمة وصعبة جداً بالنسبة للكائن الحي. فأثناء التجفيف فإن الماء يسحب بسرعة شديدة من الخلية من خلال الغشاء البلازمي ويتسبب ذلك في بعض التلف في الغشاء البلازمي للخلية، وفي بعض الحالات تبقى أجزاء من الغشاء البلازمي ملتصقة بالناحية الداخلية لجدار الخلية. من ناحية أخرى فإن إعادة عمل معلق من الخلايا النشطة الجافة في الماء الدافئ وقبل إضافتها إلى العجين ينتج عنه تضخم شديد في بروتوبلاست الخلية بسبب دخول الماء إلى الخلايا الجافة بسرعة شديدة .

مما سبق يتضح أن خواص الغشاء البلازمي لها أهمية شديدة ودور كبير في احتفاظ خلايا الخميرة النشطة الجافة بنشاطها التخمري بعد تجفيفها ثم تعليقها في الماء الدافئ قبل الإضافة إلى العجين. ويجب أن تتمتع الخميرة المستخدمة بغشاء بلازمي له سيولة أو ليونة معينة حتى تحتفظ الخميرة بحيويتها لأن ليونة أو مرونة الغشاء البلازمي تؤدي إلى تقليل تمزقه عندما ينتفخ البروتوبلاست نتيجة اندفاع الماء بسرعة إلى داخل الخلية. وبالنسبة لعمل معلق من الخميرة في الماء الدافئ قبل الإضافة إلى

العجين فإن المراجع كلها تؤكد على أن درجة حرارة الماء الدافئ يجب أن تتراوح بين ٣٨ و ٤٣°م. فعندما يتم عمل معلق من الخميرة النشطة الجافة عند درجة حرارة نموذجية يصاحب ذلك انطلاق وفقد لكميات صغيرة من المواد الذائبة الموجودة داخل الخلية في حين أنه إذا تم عمل المعلق بماء بارد فإن كميات كبيرة جداً من مكونات الخلية الذائبة تنطلق وتتحرر إلى خارج الخلية. وهناك أبحاث كثيرة تؤكد هذه المعلومة حيث وجد الباحثون أن عمل معلق من الخميرة بماء درجة حرارته ٤٣°م أدى إلى فقد ٥٪ فقط من مكونات الخلية الذائبة ذات الوزن الجزيئي المنخفض مثل الأحماض الأمينية في حين وصل الفقد في هذه المواد إلى أكثر من ٣٠٪ عندما تم عمل المعلق في ماء درجة حرارته ٥°م. وامتداداً لهذه المعلومات فقد وجد الباحثون أيضاً أن هناك فقد في مرافقات الإنزيمات +NAD عند عمل معلق بماء درجة حرارته ٤.٥°م يماثل خمسة أضعاف الفقد الذي يتم عند ٤٣°م. والخلاصة أن جميع الأبحاث أكدت أن تدفئة الخميرة النشطة الجافة على درجة حرارة تتراوح من ٣٨ إلى ٤٣°م قبل استخدامها في تخمير العجين أبطلت مفعول الماء البارد الضار للخلايا.

ويوجد مزيد من الأدلة المباشرة المتاحة والتي توضح أهمية الغشاء البلازمي أثناء تجفيف ثم إعادة الماء إلى الخلايا النشطة الجافة. فقد أوضحت بعض صور المجهر الإلكتروني لقطاع رقيق من الخميرة النشطة الجافة أن هناك فتحات في الغشاء البلازمي تجعله غير مستمر أو غير كامل وأن هذا التلف يوجد على مسافات منتظمة. ثم بعد إضافتها للعجين فإن عودة الماء إليها يجب أن تعالج هذا التلف وتعيد للغشاء البلازمي سيولته المطلوبة. ويمكن للمرء أن يفكر، هل هذه عملية فيزيائية بحتة أم أن

عدم وجود ليبيدات أو بروتينات كافية هو السبب في هذه العملية. وعلى أية حال فإن هذه المعلومات المنشورة في التسعينيات من القرن الماضي تؤكد أهمية الغشاء البلازمي وتؤكد أن هناك تغيرات سيتولوجية تحدث في الخميرة النشطة الجافة أثناء إنتاجها.

هناك أيضاً معلومات وإن كانت قليلة عن تأثير تركيب الليبيدات على احتفاظ الخميرة النشطة الجافة بنشاطها التخمري عند إعادة استخدامها كما تتناول هذه المنشورات التغيرات التي تحدث في تركيب الليبيدات أثناء إنتاج هذا المنتج الجاف. وأول تجربة تمت في هذا الصدد قام بها Thorne (١٩٧٦م)، حيث تم عمل مزرعة من إحدى العبوات التجارية للخلايا النشطة الجافة. وبواسطة المواد الكيماوية المطفرة استطاع أن يحصل على طفرة من هذه الخميرة، تتطلب وجود أحماض دهنية غير مشبعة لكي تنمو. ثم قام بعد ذلك بتنمية هذه الطفرة في وجود مختلف الأحماض الدهنية غير المشبعة، ثم قام بتحويل الكتل الخلوية الناتجة إلى منتج جاف ثم اختبر حيوية هذا المنتج بعد إعادة الماء إلية. وقد وجد أن الخلايا التي تم تنميتها في وجود تركيزات عالية من حامض الأوليك Oleic acid كانت أكثر الخلايا احتفاظاً بحيويتها ونشاطها. وقد خلص من هذه التجربة إلى أن نوع الأحماض الدهنية الذي يدخل في تركيب الليبيدات له دور كبير في احتفاظ الخلايا النشطة الجافة بحيويتها.

أخيراً فقد أصبح من المعروف أن الخميرة ذات المحتوى العالي من البروتين لا تناسب إنتاج الخميرة النشطة الجافة حيث أن استخدام هذه الخمائر يكون مصحوباً بفقد النشاط التخمري وله درجة ثبات منخفضة أثناء التخزين. كما لاحظ العلماء أن استخدام الخميرة الغنية بالبروتين لإنتاج الخميرة الجافة لا يكون مصحوباً فقط

بانخفاض النشاط التخمري وإنما يصاحبه أيضاً فقد لبعض مكونات الخلية وتحلل جزئي للفوسفوليبيدات عن طريق إنزيم الـ الفوسفوليبيز Phospholipase. هذا الإنزيم لا يتم إنتاجه في خلايا الخمائر المحتوية على مستويات منخفضة من البروتين أو خلايا الخميرة التي لا يتم تجفيفها.

(٦, ٥) سكر التريهالوز كمادة حامية للخميرة Trehalose as a yeast protectant

التريهالوز سكر ثنائي غير مختزل يتكون من وحدتي جلوكوز، ويوجد في خلايا الفطريات والنباتات والحشرات وبعض البكتيريا. ويتراكم هذا السكر في خميرة *Saccharomyces cerevisiae* ، حتى أنه قد يكون ١٥٪ من الوزن الجاف للخلايا. ويتم تراكم سكر التريهالوز في خلايا الخميرة تحت ظروف نمو صعبة، حيث يعمد الباحثون إلى وضع الخمائر الصناعية تحت هذه الظروف حتى تقوم الخلايا بتصنيع أكبر كمية ممكنة من هذا السكر. والظروف التي تجعل الخميرة تصنع كميات كبيرة من سكر التريهالوز هي تجويعها من ناحية العناصر الغذائية، مع تنميتها في ظروف قاسية مثل درجة حرارة مرتفعة، ضغط أسموزي مرتفع، ووجود تركيزات معينة من كحول الإيثانول.

والسبب الذي جعل العلماء حريصون على أن يتراكم سكر التريهالوز في خلايا الخميرة، هو أن جميع الدراسات أثبتت أن هذا السكر له خاصية هامة جداً بالنسبة لحياة الخلايا، حيث ثبت أنه يحمي الغشاء البلازمي من التحطم عند تواجد الخلايا في

ظروف قاسية، كما ثبت أن هذا السكر يحمي بروتين الخلايا من حدوث أي هدم أو أي تعديل في تركيبه عند تواجد الخلايا في ظروف صعبة .

وعلى ذلك فإن الدراسات التي أجريت في هذا المجال ومنها دراسة Abadias ومساعدوه سنة ٢٠٠١ م تقترح أن سكر التريهالوز الموجود داخل الخلايا يلعب دور مزدوج من حيث أنه يصبح مصدر للكربون والطاقة، كما يصبح عامل حماية للخميرة، وذلك في فترة تعرضها لظروف بيئية قاسية.إن الخمائر الجافة النشطة المستخدمة في مجال صناعة الخبز تتعرض لظروف قاسية أثناء تجفيفها، وقد ثبت أن وجود كميات كافية من هذا السكر يجعلها تتحمل درجات حرارة التجفيف دون أن تفقد حيويتها .

وفي عملية التجفيف تحت ظروف التجميد أو ما يطلق علية عملية التجفيد يتم تعريض معلق خلايا الميكروبات الصناعية للتجميد عند درجة – ٨٤°م ثم تجفيفها تحت نفس درجة الحرارة، فإن لم تحتوي خلايا الميكروبات على مواد تحميها من هذه الظروف القاسية ، فإنها تفقد حيويتها، حيث وجد زايد و Ross (٢٠٠٤) أن تجفيد خلايا بكتيريا حمض اللاكتيك المعلقة في ماء مقطر فقط أدى إلى أن فقد الخلايا حيويتها بنسبة ٩٩.٥٪ تقريباً. وعندما أضيف التريهالوز إلى معلق خلايا هذه البكتيريا (وهي غير قادرة على تصنيع سكر التريهالوز مثل الخميرة) احتفظت الخلايا بما يزيد عن ٩٠٪ من حيويتها، واستمرت هذه النسبة من الحيوية طول فترة تخزين البكتيريا على درجة – ٨٤°م والتي استمرت أكثر من ثلاثة أشهر.

تبحث أكبر مصانع إنتاج الخميرة في معظم دول العالم النامية دائماً عن سلالات جديدة من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* تتميز بالخصائص التي سبق شرحها.

وعلى الرغم من هناك طرق كثيرة متاحة لتعديل الصفات الوراثية لسلالات الخميرة إلا أن لدينا كل الأسباب التي تجعلنا نعتقد أن معظم السلالات المستخدمة حالياً في صناعة الخبز هي سلالات تم الحصول عليها عن طريق أقدم تقنية متاحة وهي تقنية التهجين.

(٥,٧) تعريف سلالات خميرة الخبيز Identification of baker's yeast strains

ينفق منتجوا خميرة الخبيز مبالغ ضخمة في سبيل البحث عن سلالات محسنة من الخميرة. ويسوقون في نفس الوقت منتجاتهم وهي في حالة حيوية عالية وبكميات ضخمة. ويحتاج المنتجون تقنية سهلة وميسرة تمكنهم من توصيف سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وتوصيف الميكروبات المنافسة لها.وفي الماضي كانت تستخدم تقنيات بسيطة لهذا التوصيف مثل خواص مستعمرات الخميرة النامية على بيئة آجار متخصصة وحجم وشكل الخلية. أما القياس الذي تم استخدامه كثيراً فهو التقدير الدقيق للسعة التخميرية للسلالة المستخدمة. وأسفرت الأبحاث التي أجريت خلال الخمسة عشر سنة الماضية على البيولوجيا الجزيئية للحامض النووي DNA في الخميرة عن عدة تقنيات لتوصيف سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* . وتعتبر هذه التقنيات دقيقة جداً وذلك لأن الاختلافات بين سلالات الخميرة المتقاربة جداً مثل سلالات خميرة الخبيز تظهر على الحامض النووي. وإذا أردنا العمل النموذجي فإن هذه الاختلافات يجب أن تفحص عن طريق مقارنة تتابع القواعد لكل من السبعة عشر كروموزوم في جينوم الخميرة *Saccharomyces cerevisiae*. ومنذ عشرة

سنوات كان اقتراح هذه الطريقة مثير للضحك بالنسبة للعلماء والآن يرى العلماء أنها طريقة ممكنة ولكن مازالت غير عملية ولكن علماء وراثة الخميرة يرون أنها طريقة المستقبل لتعريف سلالات الخميرة. أما في الوقت الحالي فتستخدم طريقة حديثة تقوم على نفس الأساس واصطلح على تسميتها "بصمة الحامض النووي" DNA fingerprinting . تبحث هذه الطريقة بصفة أساسية عن الاختلافات في تركيب جينوم سلالات الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* المختلفة باستخدام طرق غير مباشرة. وقد تم تطبيق مثل هذه الطرق بالفعل على مستويات صغيرة. وتوجد مجموعتين من هذه التقنيات الأولى تشتمل على تقطيع الحامض النووي للخميرة وتحليل القطع الناتجة والثانية تعتمد على فصل كروموسومات فردية من الخميرة. وباختصار شديد نلقي فيما يلي الضوء على المجموعة الأولى .

(٥,٧,١) تحليل أجزاء الـ DNA Analysis of DNA fragments

يمكن تقطيع جزيئات من الحامض النووي DNA باستخدام مجموعة مختلفة من الإنزيمات المحللة للحمض النووي من الداخل Endonucleases وذلك لإنتاج قطع من الـ DNA طول كل منها عدد قليل من الـ Kilobases . وقد اصطلح على تسمية هذه الإنزيمات بالإنزيمات المقيدة Restriction enzymes حيث أنها تستخدم لتحليل الـ DNA عند مواضع محددة من القواعد النووية على جزيئ الحمض النووي. ويوجد عدد كبير من هذه الإنزيمات بشكل تجاري. وقد وجد أن معاملة الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* بإنزيمات معينة من الإنزيمات المقيدة نتج عنه أجزاء من

الأحماض النووية. وعند فصلها عن بعضها باستخدام الفصل بالهجرة الكهربية على جل الأجاروز Electrophoresis in agarose gels فقد أعطت أنماط مميزة لكل سلالة معينة.

توجد تقنيتين أساسيتين لتوصيف أجزاء الـ DNA . حيث يفصل في التقنية الأولى خليط أجزاء الـ DNA على أساس الحجم إلى مكوناته باستخدام الفصل الكهربي على جل الأجاروز . فبعد غمر الجل في محلول بروميد الإيثيديوم Ethidium bromide والذي يتداخل مع الـ DNA فإن الأجزاء تعطي ضوء فلوروسنتي عند فحصها تحت الإشعاع فوق البنفسجي Ultraviolet radiation. وعلى الرغم من الحقيقة التي مؤداها أن هناك عديد من الاختيارات يجب ممارستها في اختيار الإنزيمات المقيدة إلا أن هناك عدد من الأحماض النووية يبقى بدون تجزئة ولهذا فإن استخدام هذه الطريقة في تعريف سلالات الخميرة ما زال محدود .

أما التقنية الثانية فهي أكثر نجاحاً وفيها يتم تعريف أجزاء الـ DNA ليس عن طريق موقعه على جل الأجاروز وإنما باستخدام مجس Probe خاص وهو عبارة عن جزء من DNA آخر ويطلق عليه الـ DNA المكمل. ويتم تهجين جزء من هذا الـ DNA المكمل مع جزء من الـ DNA محل الاهتمام. ويعلم الـ DNA المجس حتى يمكن الكشف عنه وتكون النتيجة أنه يمكن تحديد موضع الأجزاء المكملة. وعلى هذا فإن حدوث التهجين من عدمه، وليس موضع الأجزاء هو الأساس في التعريف والتقسيم للأنواع المختلفة من الخمائر.

(٥,٨) خبز العجين الحامضي Sourdough bread

(٥,٨,١) مقدمة Introduction

لقد استخدم العجين الحامضي في إنتاج الخبز منذ زمن طويل. والعجين الحامضي التقليدي كان ببساطة شديدة عبارة عن قطعة من عجين تؤخذ من عملية خبيز سابقة، وتخلط مع الدقيق والماء والملح لينتج عن ذلك عجين متخمر. تنشط بكتيريا حامض اللاكتيك التي كانت متواجدة أصلاً في الدقيق أثناء تخزين هذه القطعة قبل استخدامها، وينتج عن نشاطها حامض لاكتيك مما يزيد من حموضة العجين. يؤدي وجود هذه البكتيريا بالإضافة إلى الخميرة إلى توفير كميات من الأحماض العضوية وثاني أكسيد الكربون تسبب تخمر العجين. أنتج المصريون مثل هذا الخبز منذ حوالي ٣٠٠٠ سنة قبل الميلاد. وقد تعلم العبرانيون صناعة الخبز من العجين الحامضي عند وجودهم في مصر، ولكنهم لم يستطيعوا أخذ أفران معهم عند خروجهم من مصر، ولذلك يذكر التاريخ أنهم أكلوا بعض أنواع من الكعك غير المتخمر أثناء رحلة خروجهم من مصر. لم يعرف الإغريق الطريقة التقليدية لإنتاج الخبز الحامضي حتى أن المؤرخ الإغريقي هيرودت قال بالحرف الواحد "في حين أن كل الناس كانوا يخشون من حدوث أقل درجة فساد في أغذيتهم، فإن المصريين كانوا ينتظرون بجانب العجين ويلاحظون بشغف عملية التحلل". يقال أن فن صناعة الخبز من العجين الحامضي بدأ في روما سنة ١٦٨ قبل الميلاد، ثم انتشر إلى بقية أجزاء أوروبا عن طريق الإمبراطورية الرومانية. وعلى أية حال فإن إنتاج الخبز الحامضي بالطريقة التقليدية القديمة ما زال يتم حالياً في كثير من دول الشرق الأوسط ومنطقة البحر المتوسط وفي ولاية سان

فراسيسكو بالولايات المتحدة الأمريكية. يستخدم العجين الحامضي حالياً بتقنيات متقدمة لإنتاج أنواع خاصة من الخبز، انتشرت بشكل كبير في الآونة الأخيرة نظراً لما لها من قيمة غذائية مرتفعة ونكهة محببة لدى كثير من المستهلكين. وتشترك بكتيريا حامض اللاكتيك مع الخميرة في إنتاج العجين الحامضي، غير أن طبيعة تداخل هذه الميكروبات في إنتاج هذا النوع من العجين ما زالت غير مفهومة، حيث ركزت معظم الأبحاث على فهم خصائص العجين الحامضي . لقد عرف التعاون ما بين الخمائر وبكتيريا حامض اللاكتيك في إنتاج المشروبات والأغذية المتخمرة. ويعتبر العجين الحامضي المنتج من دقيق القمح أو الراي نظام بيئي لحدوث تداخل بين بكتيريا حامض اللاكتيك والخمائر. وتساعد الدراسات التي تتم على العجين الحامضي في فهم العلاقة بين بكتيريا حامض اللاكتيك والخمائر في أغذية أخرى مثل الكفير والجبن والخمور ومنتجات اللحوم المتخمرة. إن الحصول على معلومات خاصة بالتداخل بين بكتيريا حامض اللاكتيك والخميرة في العجين الحامضي، وتحسن ثبات هذه العلاقة تعتبر أشياء ضرورية لتجنب فقد الصفات الخاصة بهذه الميكروبات وتلبية متطلبات المستهلكين والمنتجين في وقت واحد.

(٢, ٨, ٥) ميكروبات العجين الحامضي Sourdough microflora

يتم إنتاج العجين الحامض من دقيق القمح أو دقيق الراي، حيث يكون أي منهما نظام بيئي يحتوي على كل من الخميرة وبكتيريا حامض اللاكتيك. ورغم أن

الخميرة توجد في هذا النوع من العجين بأعداد كبيرة إلا أن السيادة غالباً ما تكون لبكتيريا حامض اللاكتيك .

إن بكتيريا اللاكتوباسيلاي متجانسة التخمر أو متغايرة التخمر هي بكتيريا حامض اللاكتيك التقليدية المستخدمة في إنتاج الخبز الحامضي. وتتنوع البكتيريا المستخدمة بشكل كبير، حيث أن بكتيريا *Lactobacillus sanfranciscensis*، و *Lb. plantarum* ، و *Lb. brevis* هي أهم الأنواع المعروفة التي لها سيادة في العجين الحامضي. ورغم أن معظم بكتيريا حامض اللاكتيك التي عزلت من العجين الحامضي تنتمي للجنس *Lactobacillus*، إلا أن بعض من الباحثين مثل Gobbetti (١٩٩٨م)، وVogel و مساعدوه (١٩٩٩م)، وجدوا أو استخدموا أنواع أخرى من بكتيريا حامض اللاكتيك في إنتاج الخبز الحامضي تنتمي للأجناس *Pediococcus* ، و *Leuconostoc*، و *Enterococcus* .

غالبية الخميرة المستخدمة في إنتاج الخبز الحامضي عبارة عن خميرة الخبيز *Saccharomyces cerevisiae*. وقد يكون هناك مبالغة في تقدير كميات هذه الخميرة التي توجد أو تضاف إلى العجين الحامضي، وذلك بسبب نقص إمكانية التفرقة بينها وبين بعض أنواع الجنس *Saccharomyces* الأخرى التي وجدت في العجين الحامضي مثل *S. exiguus* . إن أنواع الخميرة السائدة في العجين الحامضي لا تقتصر فقط على الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وإنما يمكن أن توجد أو تضاف الخمائر *Saccharomyces exiguus*، *Torulopsis holmii*، *Candida krsei*، *Pichia norvegensis*، و *Hansenula anomala*، وذلك حسبما ذكر Gul ومساعدوه (٢٠٠٤م) .

وكباقي الأغذية المتخمرة المنتجة بواسطة خليط من الميكروبات فإن الخصائص الجيدة والقيم الغذائية والصحية للخبز الحامضي تتوقف على نشاط ومدى التعاون الذي يتم بين بكتيريا حامض اللاكتيك والخمائر.

(٣, ٨ , ٥) تمثيل (أيض) الكربوهيدرات Metabolism of carbohydrates

يعطي قياس كمية المواد الكربوهيدراتية الذائبة في دقيق الراي ودقيق القمح على وجه الخصوص على الدوام نتائج منخفضة . يقدر التركيز الكلي للمالتوز ، السكروز ، الجلوكوز ، والفركتوز في دقيق القمح بنحو ١.٦ إلى ١.٩٪ ويعتمد ذلك على التوازن بين تحلل النشا بواسطة إنزيمات الدقيق والإنزيمات الميكروبية ، وما بين استهلاك هذه السكريات بواسطة الميكروبات ويتأثر استخدام المواد الكربوهيدراتية الذائبة بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك، وما ينتج عن ذلك من طاقة، وحامض لاكتيك، وحامض خليك، بشدة بالخميرة المصاحبة للبكتيريا، ويختلف كثيراً باختلاف أنواع السكر السائدة. وكثيراً ما تكون نتائج الأبحاث متعارضة في هذا الشأن بسبب تعقيد البيئة التي توجد بها الميكروبات.

ولابد من التأكد من وجود الخميرة حية في العجين الحامضي، حيث أن وجد Vollmar و Meuser (١٩٩٢م) أن التعاون ما بين بكتيريا *Lb. sanfranciscensis* و خميرة *S. cerevisiae* كان مثالياً في إنتاج عجين حامضي له خصائص جيدة، في حين أن استبدال الخميرة بمستخلص الخميرة لم يؤد إلى نفس النتائج.

إن عدم وجود تنافس بين بكتيريا حامض اللاكتيك والخميرة على بعض السكريات مثل المالتوز، أمر أساسي للوصول إلى ثبات عملية التعاون بين هذه الميكروبات وإنتاج خبز له مواصفات جيدة. وعلى ذلك يجب استخدام خمائر تفضل الجلوكوز أو السكروز وفي نفس الوقت تتحمل تركيزات مرتفعة من حامض الخليك الذي تنتجه البكتيريا، وعلى أية حال فإن عدم وجود تنافس على المصدر الرئيسي للكربون يعتبر صفة مطلوبة ليس فقط في إنتاج الخبز الحامضي ولكن في إنتاج كل الأغذية المتخمرة التي تشترك بكتيريا حامض اللاكتيك والخميرة في إنتاجها (على سبيل المثال فإن الخميرة المستخدمة في إنتاج الكفير،والكوميس لا تمثل اللاكتوز وهو مصدر الكربون الرئيسي في هذه الأغذية) .

وقد أوضحت نتائج معظم الأبحاث أن بكتيريا حامض اللاكتيك تتكاثر ببطء وتنتج كميات قليلة من حامض اللاكتيك وحامض الخليك عندما تكون في مزرعة مختلطة مع الخميرة بالمقارنة بوجودها في مزرعة نقية. يعود هذا النقص في النمو وفي إنتاج الأحماض إلى أن الخميرة تكون أسرع في استهلاك المالتوز،والجلوكوز على وجه الخصوص عندما تتواجد مع بكتيريا حامض اللاكتيك في بيئة تحتوي إلى هذه المصادر من الكربون .

لاحظ العلماء حدوث تنشيط لنمو بكتيريا حامض اللاكتيك في مزرعة مختلطة مع الخميرة، عندما تم تدعيم دقيق القمح بكميات من السكر الذائب. أما في حالة عدم إضافة سكر فإن الخميرة تستهلك السكر الناتج من تحلل نشا الدقيق أول بأول ولا يكون هناك فرصة لنمو بكتيريا حامض اللاكتيك بشكل جيد وهذا بدوره يقلل

عملية التحميض التي تنتج عن نشاط هذه البكتيريا. هذه الحالة تكون أقل حدة في دقيق الراي، حيث أن نشاط إنزيمات الدقيق يكون أعلى مما يزيد من تركيز المواد الكربوهيدراتية الذائبة. يتراوح تركيز المالتوز في دقيق القمح الذي يتم تخميره بواسطة الخمائر وبكتيريا حامض اللاكتيك ما بين ٢ و ٥ جرام/ كيلو جرام. وقد وجد أن المالتوز يمكن أن يتراكم في البيئة، حيث أنه لا يمثل بواسطة بعض الخمائر حتى يتم نفاد الجلوكوز الميسر. وقد اقترح بعض العلماء إضافة مصادر كربون مختارة إلى عجين دقيق القمح، وذلك لزيادة إنتاج حامض اللاكتيك وحامض الخليك بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك .

وبعض سلالات الخميرة *S. cerevisiae* ، حساسة لحامض الخليك الذي تنتجه بكتيريا حامض اللاكتيك، خصوصاً عند درجة الـ pH الطبيعية للعجين الحامضي والتي تتراوح من ٤ إلى ٤،٥، وفي هذه الحالة يجب إضافة كمية كبيرة من الخميرة لتعويض كمية الخلايا التي قد تهلك نتيجة انخفاض رقم الـ pH .

ومرة أخرى يجب مراعاة أنواع السكر التي تفضلها الميكروبات المضافة، فعلى الرغم من أن سيادة سكر المالتوز لا تخدم عملية التخمر في حالة استخدام سلالات معينة من بكتيريا حامض اللاكتيك ، فقد وجد أن هذا السكر كان له كفاءة عالية جداً عند استخدام بكتيريا *Lb. sanfranciscensis* ، *Lb. pontis* ، *Lb. reuteri* ، و *Lb. fermentum* ، حيث أن هذه الأنواع لها صفات فريدة من حيث امتلاكها لإنزيم فسفرة المالتوز maltose phosphorylase، والذي يعتبر في هذه الحالة مفتاح نمو بكتيريا حامض اللاكتيك . وفي هذا الصدد أيضاً وجد Gobbetti ومساعدوه (١٩٩٤م) زيادة في

نمـو خـلايا بكتيـريا *Lb. plantarum* وفي إنتاج حامض اللاكتيك في وجود السكروز كمصدر للكربون، حيث أن تحلل السكروز بواسطة الخميرة ينتج عنه جلوكوز وفركتوز يتحللان بواسطة بكتيريا حامض اللاكتيك بدرجة أسرع من السكروز. وقد وجد أن الخميرة تحلل السكروز بدرجة تزيد عن تخمر نواتج تحلله بمقدار ٢٠٠ ضعفاً، مما يسبب سرعة اختفاء هذا السكر أثناء تخمر العجين الحامضي .

(٤, ٨, ٥) تمثيل (أيض) مركبات النيتروجين

Metabolism of nitrogen compounds

تتراكم الأحماض الأمينية أثناء تخمر العجين الحامضي. وتلعب الببتيدات والأحماض الأمينية دوراً أساسياً في نكهة الخبز الناتج، وتعتبر مواد أولية precursors لإنتاج مواد هامة في العجين المخبوز، كما تتداخل الأحماض الأمينية والببتيدات أيضاً في الخواص الفيزيائية للعجين. وتقوم إنزيمات الدقيق، ومختلف سلالات بكتيريا حامض اللاكتيك بتحليل البروتين إلى ببتيدات وأحماض أمينية، كما أن الكتل الخلوية أي خلايا الميكروبات التي تموت وتتحلل مصدر جيد للأحماض الأمينية. وتؤدي عملية خلط مكونات العجين (الدقيق، الماء، الملح، والميكروبات) إلى تحفيز إنزيمات التحلل التي تنتجها الميكروبات في العجين. وهناك أحماض أمينية خاصة تنتجها الخميرة S. cerevisiae في العجين بكميات مختلفة باختلاف ظروف التخمر. ولعل أهم هذه الأحماض، كما قدرها Collar (١٩٩٦م) هي جاما–أمينو بيوتيرك -γ aminobutyric، البرولين، الفالين ، الأيزوليوسين ، الجلايسين ، الألانين وكذلك

الببتيدات ، في حين أن بكتيريا حامض اللاكتيك تنتج الجلايسين والألانين بصفة رئيسية. وعندما تحتوي المزرعة المختلطة التي تضم الخميرة وبكتيريا حامض اللاكتيك، على كميات كافية من مصدر الكربون والفيتامينات، فإن تنشيط نمو البكتيريا بواسطة الخميرة ، يرجع إلى عدم وجود تنافس على مصدر النيتروجين (تفضل الخميرة الحصول على النيتروجين من أيون الأمونيوم في خليط العجين الذي يحتوي على كلوريد أمونيوم وأحماض أمينية)، كما يعود إلى إفراز الخميرة كميات كافية من أحماض أمينية متخصصة وكذلك إفرازها كميات من الببتيدات، وذلك إما أثناء نموها أو بعد تحلل خلاياها.

ويبدو أن استهلاك الخميرة للجلوكوز يحفز عملية خروج الأحماض الأمينية من داخل خلايا الخميرة عن طريق بعض التغييرات التي تحدث في نفاذية الغشاء البلازمي للخلية. تؤدي الخمائر بصفة عامة إلى نقص في الأحماض الأمينية ، إلا أن إضافة الخميرة التي لا تحلل البروتين بأعداد ابتدائية كبيرة لا تقل عن 10^{7} خلية / جم من العجين ، يؤدي إلى إنتاج كميات كبيرة من الأحماض الأمينية أثناء التخمر، تكفي احتياجات بكتيريا حامض اللاكتيك ، وهذا بدوره يؤدي إلى ثبات وجود البكتيريا في العجين الحامضي . وهناك اختلاف في أنواع وكميات الأحماض الأمينية المنتجة في العجين، باختلاف أنواع وسلالات الميكروبات المضافة، ولكن في كل الحالات هناك نوع من التعاون البديع بين هذه الميكروبات سواء كانت حية أو حتى بعد موتها .

ربما نكون قد أسهبنا في ذكر كثير من الخدمات التي تقدمها الخمائر لبكتيريا حامض اللاكتيك بخصوص توفير الأحماض الأمينية، حتى أن القارئ قد يظن أن البكتيريا لا تقدم شيء للخميرة في هذا الصدد، حيث أن الخمائر تفضل الحصول على النيتروجين من مصادر معدنية، ولكن الحقيقة هي أن بكتيريا حامض اللاكتيك خصوصاً في العجين الحامضي الذي لا يضاف له مزارع نقية، تقوم بتحليل البروتين وتزيد من تركيز الأحماض الأمينية التي تحتوي على مجموعات أليفاتية، وكربوكسيلية وهي أحماض منشطة لنمو البكتيريا، كما أنها في نفس الوقت تستخدم بواسطة الخميرة.

(٥, ٨ , ٥) إنتاج ثاني أكسيد الكربون والمركبات الطيارة الأخرى

Production of CO2 and other volatile compounds

على الرغم من أن تركيز خلايا الخميرة ونوعها هي العوامل الرئيسية المسئولة عن معدل إنتاج غاز ثاني أكسيد الكربون في العجين الحامضي إلا أن بكتيريا حامض اللاكتيك لها أيضاً تأثير على عملية انتفاخ العجين وإنتاج ثاني أكسيد الكربون، بل إن بكتيريا حامض اللاكتيك يمكنها وحدها أن تكون السبب الرئيسي في انتفاخ العجين الحامضي المنتج من دقيق الراي. لقد أوضحت التحاليل أن كمية ثاني أكسيد الكربون التي تنتجها الخمائر الأخرى مثل *S. exiguus* . لا تقارن بكمية ثاني أكسيد الكربون التي تنتجها خميرة *S. cerevisiae* ، التي لها قوة إنتاج شديدة جداً لهذا الغاز. وبمقارنة نمو خميرة *S. cerevisiae* وحدها بنموها متحدة مع بكتيريا حامض اللاكتيك اتضح للعلماء أن وجود البكتيريا مع الخميرة يؤدي إلى زيادة الحد الأقصى من ثاني أكسيد الكربون

ويقلل الوقت اللازم لإنتاج هذه الكمية بمقدار الثلث، ويحسن من مقدرة العجين على الاحتفاظ بالغاز، ويزيد من حجم أرغفة الخبز . إن حامض اللاكتيك الذي تنتجه بكتيريا حامض اللاكتيك متغايرة التخمر مثل *Lb. plantarum* هو المسئول عن البناء المرن للجلوتين والذي يعطي الخبز البناء المطاط. وقد وجد Martinez-Anaya ومساعدوه (١٩٩٠م) أن إضافة الفركتوز إلى العجين الحامضي الذي تشترك في إنتاجه خميرة *S. cerevisiae* وبكتيريا *Lb. sanfranciscensis* بمقدار ٦ جرام/ كيلوا جرام ، أدى إلى زيادة إنتاج حامض الخليك وعدد خلايا بكتيريا حامض اللاكتيك وانخفاض كمية الإيثانول المنتجة، وتأثرت قليلاً كمية ثاني أكسيد الكربون المنتجة ولكن ازداد معدل إنتاج الغاز بمقدار الضعف .

تتأثر نكهة أرغفة الخبز الحامضي بنوع المادة الخام ، تخمر العجين الحامضي، عملية الخبيز ونوع البادئات المستخدمة ومدى نشاط هذه البادئات، والعوامل التي تؤثر على هذا النشاط مثل درجة الحرارة وغيرها. خلص العلماء (Hansen و Schieberle ٢٠٠٥م) إلى أن توليد كميات كافية من المواد الطيارة أثناء التخمر هي السبب الرئيسي في نكهة الخبز الحامضي ، ويحتاج إنتاج هذه المواد إلى حوالي ١٢-٢٤ ساعة ، في حين أن التخمر بواسطة الخميرة وحدها ينتهي خلال ساعات قليلة . وعلى ذلك فإن الكمية العظمى من المواد العطرية تتكون أثناء عملية الخبيز، ولكن عملية تخمر العجين الحامضي، أساسية للوصول إلى نكهة مقبولة، حيث فشلت عملية تحميض الخبز كيماوياً في إنتاج خبز له جودة ونكهة مقبولة لدى المستهلكين. إن التداخل الذي يحدث بين الميكروبات لإنتاج المركبات الطيارة قد حظي بقدر واف من الدراسة ، التي

أوضحت أن المواد الطيارة الناتجة تتوقف على نوع التخمر، حيث أن كل نوع من التخمر سواء كان تخمر حامض اللاكتيك المتجانس، أو المتغاير أو التخمر الكحولي ينتج عنه مركبات معينة وثابتة من حيث النوع مع تكرار عمليات التخمر. وقد تمكن العلماء من التمييز بين هذه المركبات ، حيث وجدوا أن المركبات 2-methyl-1-propanol و 2,3 methyl-1-butanol تنتج بصفة رئيسية عن طريق الخميرة، وينتج المركب diacetyl بصفة رئيسية عن طريق تخمر حامض اللاكتيك المتجانس، كما ينتج المركب ethylacetate عن طريق تخمر حامض اللاكتيك المتغاير. إن هذه المركبات هي المسئولة بصفة أساسية عن نكهة الخبز ويجب أن يتم توجيه التخمر لإنتاج هذه المركبات بكميات ونسب تؤدي إلى زيادة جودة النكهة. ولا شك أن تداخل التفاعلات التي تقوم بها الميكروبات في العجين الحامضي تؤثر إما سلباً أو إيجاباً على تصنيع المركبات الطيارة بواسطة خلايا الميكروبات، ويجدر مناقشة الكيمياء الحيوية الخاصة بعملية تصنيع هذه المركبات، إلا أنها خارج نطاق هذا الكتاب .

(٥,٨,٦) الحماية الذاتية للعجين الحامضي

Self-protection of the sourdough

لقد عرف العلماء منذ حوالي عشرون عاماً أن هناك تثبيط يحدث للبكتيريا التقليدية التي توجد في الدقيق بواسطة مزارع بكتيريا حامض اللاكتيك. وبكتيريا حامض اللاكتيك متجانسة التخمر لها تأثير مثبط لمجموعة ميكروبات القولون coliforms بدرجة أشد من بكتيريا حامض اللاكتيك متغايرة التخمر. وقد أمكن عزل

وتنقية المواد المثبطة التي تنتجها هذه البكتيريا . واتضح أن لها مدى تثبيطي كبير أي أنها تختلف بشدة من المواد المضادة للميكروبات المصاحبة للحبوب ، أو المواد المضادة للميكروبات الممرضة أو الميكروبات المسببة لفساد الأغذية . ومن المثير في هذه النقطة أن بكتيريا حامض اللاكتيك تنتج مواد مثبطة لأنواع كثيرة من الميكروبات الضارة ، ولكن هذه المواد ليست مثبطة للخميرة المصاحبة لبكتيريا حامض اللاكتيك . وعلى سبيل المثال وجد أن لبكتيريا *Lb. sanfranciscensis* تأثير مثبط على بكتيريا *Bacillus subtilis* عن طريق إنتاج مادة مثبطة أطلق عليها BLIS C57 وهي مادة مقاومة لدرجة الحرارة المرتفعة حيث يمكن أن تتحمل درجة حرارة ١٠٠°م لمدة ٢٠ دقيقة، كما أنها مقاومة لفعل إنزيمات التحلل. ومن المثير أن هذه المادة كان لها تأثير مثبط على كل أنواع بكتيريا حامض اللاكتيك محل الدراسة ما عدا بكتيريا *Lb. fructivorans* ولكن لم يكن لها أي تأثير مثبط على خميرة العجين الحامضي . لقد أثبتت التجارب أن بكتيريا حامض اللاكتيك لها نشاط يسمى النشاط المضاد للفطريات The antimould activity. والمسئول عن هذا النشاط خليط من أحماض الخليك، الكابرويك، والفورميك ، والبروبيونك، والبيوتيريك، والفاليرك. هذه المجموعة من الأحماض تنتجها بكتيريا *Lb. sanfranciscensis* بكميات كافية وتعمل بشكل تعاوني على تثبيط أعفان فساد الخبز مثل *Fusarium*، و *Penicillium*، و*Aspergillus*، و*Monilia*. (الشكل رقم ٥،٢) الذي يوضح أن حامض الكابرويك كان أكثر هذه المواد تأثيراً على فطريات الفساد .

وقد أوضحت التجارب أيضاً أن هذا المخلوط من الأحماض كان له تأثير مثبط أيضاً على بعض أنواع الخميرة مثل *Candida* sp، ولكن ليس له تأثير على خميرة *Saccharomyces* sp.

إن إنتاج بكتيريا حامض اللاكتيك وخصوصاً بكتيريا *Lb. sanfranciscensis* لكميات كبيرة من المواد المضادة للبكتيريا والمضادة للأعفان، يساهم بدرجة كبيرة في ثبات منتجات العجين الحامضي ، ويجعل هذا المنتج يتمتع بما يسمى الحماية الذاتية مثل كثير من منتجات الأغذية المتخمرة .

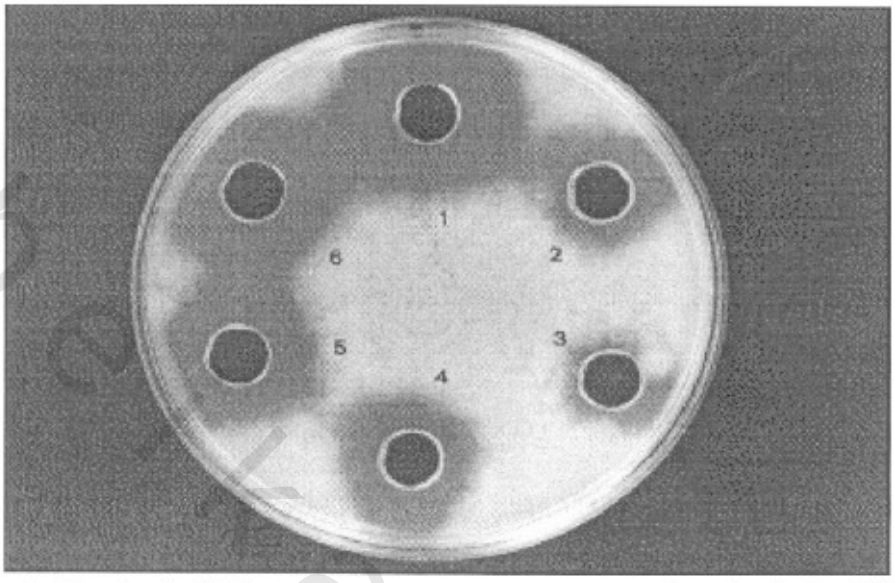
وقد يكون من حسن حظ منتجي الخبز الحامضي أن سلالات خميرة الخبيز بصفة عامة ليس لها نشاط تثبيطي ضد بكتيريا حامض اللاكتيك، ففي عمل جماعي بقيادة Neto (٢٠٠٤م) تم عمل حصر وغربلة للخمائر بغرض البحث عن خميرة لها نشاط تثبيطي ضد البكتيريا. ورغم أن الهدف من هذه الدراسة كان البحث عن سلالة خميرة تقاوم التلوث البكتيري أثناء التخمر الكحولي، أي أنه هدف بعيد عن موضوع الخبز الحامضي إلا أن نتائجه تهم القائمين على صناعة الخبز الحامضي، حيث أوضحت هذه النتائج أنه من بين ٦٠ سلالة من خمائر جنس *Saccharomyces* لم يكن هناك سوى سلالة واحدة (*Saccharomyces* sp. M26) لها نشاط تثبيطي ضد بكتيريا حامض اللاكتيك (*Lactobacillus fermentum*) ، حيث قامت الخميرة باختزال نمو هذه البكتيريا بشكل معنوي بالمقارنة بالكنترول. ويبدو أن هذه السلالة لها نشاط تثبيطي قوي ضد بكتيريا حامض اللاكتيك حتى أن تجميد مستخلص هذه الخميرة لم يؤثر على قدرته التثبيطية، والمعاملة الوحيدة التي حطمت هذه القدرة التثبيطية كانت

تسخين مستخلص الخميرة على درجة ٩٠°م لمدة ٢٠ دقيقة. إن منتجي الإيثانول سوف يسعدهم استخدام مثل هذه السلالة في إنتاج الإيثانول، ولكن منتجي الخبز الحامضي لن يسعدهم أبداً استخدام مثل هذه السلالة.

(٥ ,٨,٧) التخمر الأمثل للعجينة الحامضية

Optimization of sourdough fermentation

يتم بصفة عامة تقييم تخمر العجين الحامضي عن طريق قياس بعض العوامل مثل درجة الـpH ، وأنواع الأحماض ، والميكروبات السائدة. وقد وجد أن حجم الخبز المنتج عن طريق العجين الحامضي المتخمر بطريقة تقليدية والذي يكون له pH منخفض ونسبة عالية من حامض اللاكتيك أكبر بالمقارنة بحامض الخليك، إلا أنه له معدل فساد أكبر أثناء التخزين ولا يبدوا طازجاً بالمقارنة بذلك الخبز المنتج من عجين تم اختيار سلالات معينة لتخميره، حيث وجد Gul ومساعدوه (٢٠٠٤م) أن العجين الحامضي الذي تم إنتاجه عن طريق إضافة ١،٥٪ من مزرعة نقية لبكتيريا *Lactobacillus amylophilus*، و ١،٥٪ من الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* كان له صفات جيدة بالمقارنة بالعجين المنتج عن طريق إضافة ١،٥٪ من مزرعة مختلطة من بكتيريا حامض اللاكتيك و ١،٥٪ من الخميرة. كذلك فإن بكتيريا حامض اللاكتيك المنتقاة كان لها أثر طيب في إطالة العمر التخزيني للخبز الناتج.



الشكل رقم (٥،٢). تثبيط نمو عفن *Fusarium graminearum* 623 بواسطة (١) مخلوط من أحماض الخليك ، الكابرويك ، الفورميك، البروبيونك، البيوتيرك، والفاليرك، (٢) نفس المخلوط بدون حامض الخليك ، (٣) حامض الكابرويك، (٤) حامض الفورميك، (٥) حامض البيوتيرك، و (٦) حامض البروبيونك. (التركيز الكلي ١٦ مليمول).

المصدر: Corsetti et al (1998).

وقد حاول Meignen ومساعدوه (٢٠٠١م) التوصل إلى أفضل الظروف التي تؤدي إلى تخمر أفضل للعجين الحامضي بواسطة بكتيريا *Lactobacillus brevis* وخميرة الخبيز، ووجد أن درجة حرارة التخمر كان لها تأثير فعال على جودة العجين الناتج وكانت درجة حرارة ٣٠°م هي الأفضل حيث نتج عنها عجين حامضي مثالي مع كميات مثالية من المواد العطرية، ولكن يجب التنويه على أن لكل ميكروب درجة

حرارة خاصة به لذا يمكن القول بأن درجات حرارة تخمير العجين الحامضي قد تتراوح ما بين ١٥ إلى ٣٠°م.

ومن ناحية أخرى وبالإضافة إلى درجة الحرارة تؤثر مستويات ملح الطعام والسكروز المضافة إلى العجين بدرجة كبيرة على صفات العجين المنتج، حيث أن زيادة تركيز ملح الطعام عن حد معين يمكن أن ينتج عنها تأثير سلبي على نمو الخميرة. وقد درس تأثير تركيزات مختلفة من الملح ووجد أن زيادة التركيز عن ٣٪ قد يكون له تأثير سيئ في حين كان ٠.٧٪ الأفضل حيث أدى إلى تنشيط نمو بكتيريا حامض اللاكتيك وكذلك خميرة الخبيز. أما إضافة السكروز، ففي الغالب يكون لها تأثير طيب على نمو كل من الخميرة وبكتيريا حامض اللاكتيك وقد وجد أن أحسن تركيزات من السكروز المضاف تتراوح ما بين ١ إلى ٦٪ حسب أنواع الميكروبات المستخدمة.

(٥,٩) المراجع

Abadias, M.; Benabarre, A.; Teixido, N.; Usall, J. (2001) Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast Candida sake. Int. J. Food. Microbiol., 65: 173-182

Bayrock, D. and Ingledew, W. (1997) Mechanism of viability loss during fluidized bed drying of baker's yeast. Food Research International, 30: 417-425

Collar, C., (1996) Biochemical and technology assessment of the metabolism of pure and mixed cultures of yeast and lactic acid bacteria in bread making applications. Food Sci. Technol. Intern., 2:349-367

Corsetti, A.; Gobbetti, M.; Rossi, J. and Damoiani, P. (1998) Antimould activity of sourdough lactic acid bacteria: Identification of a mixture of organic acids produced by Lb. sanfranciscensis CBI. Appl. Microbiol. Biotechnol. 50: 253-256

Evans, I. (1990) Desired properties of baker's yeast. In Yeast Biotechnology. Eds, J. F. Spencer and D. M. Spencer, Springer-verlag, Berlin, 1: 13-54.

Gobbetti, M. (1998) The sourdough microflora: interaction of lactic acid bacteria and yeasts. Trends Food Sci. Technol. 9: 267-274

Gobbetti, M.; Corsetti, A. and Rossi, J. (1994) The sourdough microflora. Interaction between lactic acid bacteria and yeasts: Metabolism of Carbohydrates. Appl. Microbiol. Biotechnol. 41: 456-460

Gul, H.; Ozcelik, S.; Sadic, O. and Certel, M. (2004) Sourdough bread production with lactobacillus and S. cereviaise isolated from sourdoughs. Process Biochemistry, 40: 691-697

Hansen, A. and Schieberle, P. (2005) Generation of aroma compounds during sourdough fermentation: applied and fundamental aspects. Trends in Food Science and Technology, 16: 85-94

Kiby, W. (1912) Handbuch fur Presshefenfabrikation. Friedrich, Vieheg und Sohn, Braunschweig.

Martinez-Anaya, M.; Pitarch, B.; Bayarri, P. and Benedito de Barber, C. (1990) Microflora of the sourdough of wheat flour bread. X. Interaction between yeasts and lactic acid bacteria in wheat dough and their effects on bread quality. Cereal Chem., 67: 85-91

McNaughton, C.; Tessendorf, B. and von Holy, A. (1998) Antimicrobial efficacy of preservative combinations in South African brown bread. Microbios 93: 4146.

Meignen, B.; Onno, B.; Gelinas, P.; Infantes, M.; Guilois, S. and Cahagnier, B. (2001) Optimization of sourdough fermentation with Lactobacillus brevis and baker's yeast. Food Microbiology, 18: 239-245

Neto, P.; Ferrira, M. and Yokoya, f. (2004) Screening for yeast with antibacterial properties from an ethanol distillery. Bioresource Technology, 92: 1-6

Nott, P.; Karim, M. and Morris, A. (1996) Fault and contamination detection in a continuous bakers yeast fermentation. Computers and Chemical Engineering, 20, 611-616

Pattison, T. and von Holy, A. (2001) Effect of selected natural antimicrobials on Baker's yeast activity. Letters in Applied Microbiology, 33: 211-213

Rose, A. and Harrison, J. (1993) Baker's Yeasts In Yeast Technology, Academic Press, New York, 5, 5th ed.

Rose, A. and Harrison, J. (1993) Yeast Technology, Academic Press, New York, 5 5th ed.

Sak, S. (1919) Danish Patent. 28, 507

Spicher, G. and Mastik, G. (1988) Interaction between the Lactobacilli of sourdough and flour microflora. Getreide. Mehl und Brot., 42: 338-342

Thorne, A. (1976) Fermentation activity of active dry yeast .In Yeast Technology, Academic Press, New York, 5, 5th ed.

Vogel, R.; Knorr, R.; Muller, M.; Steudel, U.; Ganzle, M. and Ehrmann, M. (1999) Non-dairy lactic fermentations: the cereal world. Antonie van Leeuwenhoek, 76: 403-411

Vollmaar, A. and Meuser, F. (1992) Influence of starter cultures consisting of lactic acid bacteria and yeast on the performance of a continuous sourdough fermenter. Cereal Chem. 69: 20-27.

Zayed, G. and Roos, Yrjo H. (2004) Influence of trehalose and moisture content on survival of Lactobacillus salivarius subjected to freeze-drying and storage. Process biochemistry, 39: 1081-1086.

obeikandl.com