

## أمثلة ظروف إنتاج الكتلة الحيوية

### لخميرة *Saccharomyces cerevisiae* المدعمة

#### بالسيلينيوم

تهاني خالد العايدي<sup>(1)</sup> هدى ياسين حبال<sup>(2)</sup> محمد خير طحلة<sup>(3)</sup>

#### الملخص

أُجري هذا البحث في مخابر قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق في عام 2015، حيث أُنتجت خميرة *Saccharomyces cerevisiae* المدعمة بالسيلينيوم؛ وذلك بالتنمية على بيئة المولاس تركيزه (12%)، وتحديد الظروف المناسبة لإنتاجها في مستويات مختلفة من تركيز سيلينيوم الصوديوم (15-22.5-30 مكغ/مل)، ودرجات pH (3-4-5)، ودرجات حرارة التحضين (30-31.5-33°س) باستخدام التصميم الإحصائي (RSM) Response Surface Methodology. أظهرت نتائج الأمثلة أن إضافة سيلينيوم الصوديوم بتركيز 22.5 مكغ/مل، وضبط درجة حموضة البيئة عند pH=5، والتحضين في درجة حرارة 31.5°س كانت أفضل العوامل للحصول على أعلى إنتاج من الكتلة الحيوية (2.3010 غ/ل)، وتراوح تركيز السيلينيوم في الخميرة الناتجة بين (0-29900 ppm).

**الكلمات المفتاحية:** السيلينيوم، *Saccharomyces cerevisiae*، سيلينيوم الصوديوم، الخميرة.

(1) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية - قسم تكنولوجيا الأغذية - دمشق.

(2) أستاذ مساعد في قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق.

(3) أستاذ في قسم علوم الاغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق.

## Optimization of conditions for biomass production for selenium- enriched yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

Tahane Al-idee<sup>(1)</sup>

Hoda Habbal<sup>(2)</sup>

Mohammad Ker Tahla<sup>(3)</sup>

### Abstract

This research was conducted in 2015, at the Food Science Department laboratories, Faculty of Agriculture-Damascus University. Selenium enriched yeast, produced by growing of *Saccharomyces cerevisiae* in molasses medium (12%) and the culture conditions of production including initial sodium selenite concentration(15-22.5-30 µg/mL), initial pH(3-4-5) and incubation temperature (30-31.5-33°C) were optimized using Response surface methodology (RSM). The results showed that the optimum conditions for production of selenium enriched were achieved on molasses medium containing 22.5 µg/mL( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) with an initial pH of 4 at 31.5°C , these optimum conditions generated (2.3010 g/L) of the biomass yield, and the total selenium-accumulation in the range of(0 -29900 ppm).

**Key words:** Selenium, *Saccharomyces cerevisiae*. sodium selenite, yeast.

- 
- (1) General Commission for Scientific Agricultural Research, Food Technology Department  
(2) Assistant Professor, Food Science Department, Faculty Agriculture.  
(3) Professor in Food Science Department – Faculty of Agriculture.

## المقدمة والدراسة المرجعية:

يعدُّ السيلينيوم أحد العناصر الصغرى الأساسية الضرورية للإنسان والحيوان، وهو يؤدي دوراً مهماً في مكافحة الجذور الحرة في الجسم، ويدخل في تركيب العديد من الأنزيمات والأحماض الأمينية والبروتينات (Rayman، 2000).

يُسَدُّ احتياج الجسم من عنصر السيلينيوم (55 مكغ/الفرد/اليوم) من خلال تناول الأغذية، أو المكملات الغذائية التي يوجد فيها السيلينيوم بصورته العضوية أو اللاعضوية. يؤدي نقص المدخول اليومي للبالغين من السيلينيوم عن (40 مكغ/يومياً) إلى ظهور مرض Keshan الذي يتمثل في اعتلال العضلة القلبية، وعدم انتظام ضربات القلب، وفقدان الشهية، كما يسبب نقصه الإصابة بمرض Kashin-Beck إذ يؤدي هذا المرض إلى تشوه ونخز في مفاصل اليدين والساقين (Fairweather-Tait وزملاؤه، 2011). من جهة أخرى، يصبح السيلينيوم ذا تأثير سام للإنسان والحيوان عندما يجري تناوله بكميات كبيرة (أكثر من 400 مكغ/يومياً).

تعدُّ الخميرة المدعمة بالسيلينيوم أحد مكملات السيلينيوم العضوية (Bryszewska وزملاؤه، 2005)، تُنتج الخميرة المدعمة بالسيلينيوم عن طريق تنمية *Saccharomyces cerevisiae* في بيئة تحتوي على عنصر السيلينيوم اللاعضوي (AAFCO، 2003). تقوم الخميرة بتحويل المصادر اللاعضوية كسليينيت الصوديوم ( $Na_2SeO_3$ ) إلى مصدر عضوي أكثر أماناً وإتاحةً للجسم (Esmaeili وزملاؤه، 2012).

تُساعد التراكيز المنخفضة من السيلينيوم على نمو خلايا الخميرة وتطورها طبيعياً، إذ يقوم بالمحافظة على بقاء خلايا الخميرة ودورة حياتها من خلال المحافظة على سلامة الحمض النووي، بالإضافة إلى دوره في اصطناع البروتين (Spallholz، 1994). بالمقابل يصبح السيلينيوم ذا أثر سمي في الخلية بالتراكيز المرتفعة (Hamilton، 2004) التي تسبب ضغطاً وجهداً عالياً على الخلايا وإحداث ضررٍ بجدارها (تمزق جدار الخلية) وتراكم بعض منتجات الأيض داخل خلاياها (Simon وزملاؤه، 2011). سمحت FDA في عام (2000) باستخدام الخميرة المدعمة بالسيلينيوم في علائق الدجاج (Mahmoud و Edens، 2003) لتأثيرها إيجاباً في نمو الدواجن وتكاثرها (Dimitrov وزملاؤه، 2007).

كما يمكن استخدام الخميرة المدعمة بالسيلينيوم بديلاً للخميرة العادية في صناعة الخبز أو مكماً غذائياً، وقد أكد مركز مكافحة السرطان في الولايات المتحدة الأمريكية أن تناول 200 ميكروغرام من المكملات المضاف إليها الخميرة المدعمة بالسيلينيوم يؤدي إلى انخفاض معدل الإصابة بالسرطان (Clark وزملاؤه، 1996).

ونظراً للدور المهم لعنصر السيلينيوم في جسم الإنسان، وقلة الدراسات المحلية عن إنتاج خميرة مدعمة بالسيلينيوم، وتأثيره في نمو خميرة الخبز، تركّز هدف البحث على إنتاج خميرة مدعمة بالسيلينيوم وتحديد شروط إنتاجها ضمن ظروف مخبرية مختلفة من تركيز سيلينيت الصوديوم، درجة الحرارة، ودرجة الـ pH .

## المواد وطرائق البحث

### 2-1- المواد والأجهزة المستخدمة:

استخدمت خميرة الخبز الجافة النشطة (*Saccharomyces cerevisiae*) المستوردة من شركة Bakaldrin (الصين) المتوافرة في الأسواق المحلية التي شخّصت ووصفت مرفولوجياً وفيزيولوجياً باستخدام تقنية API (الأكثر، 2015) .

**المولاس:** استخدم في عملية التخمير مزيج من مولاس قصب السكر والشوندر السكري (1:1) الذي تمّ الحصول عليه من المؤسسة العامة للسكر.

**أوساط الزرع المستخدمة:** وسط آغار البطاطا والدكستروز (PDA)، ووسط مرق البطاطا والدكستروز (PDB)، ومستخلص الخميرة، وبيتون.

**الأجهزة والمعدات:** حاضنة هزازة (Memmert - ألمانيا)، حاضنة (JSR - اليابان)، فرن تجفيف، جهاز المطياف الضوئي Optizim 3000 plus - (فرنسا)، مثقلة أنابيب (نوع MPW-351 - بولندا).

## 2-2- طرائق التحليل:

تحديد المؤشرات الكيميائية والفيزيائية للمولاس المستخدم: حُددت المؤشرات الآتية للمولاس وفقاً للطرائق المحددة من قبل (ICUMSA، 2000) وهي:

تحديد المادة الجافة (Brix)، وتحديد درجة الـpH، وتحديد الرطوبة، وتحديد الرماد كنسبة مئوية، وتحديد المحتوى من السكر، وتحديد محتوى المولاس من العناصر (Ca، P، K، Na، Cl)، وتحديد الكثافة.

**تنمية الخميرة:** حُضر معلق مائي من خلايا الخميرة الجافة المستوردة، ثم زرعت بطريقة التخطيط على وسط مائل (Slants) من PDA، وحضنت بدرجة 25°س مدة 48 ساعة، وحفظت في الثلاجة في درجة 4°س (Muthukumar و Rajashree، 2013).

**تنشيط الخميرة:** نُشِطَت الخميرة بأخذ عدة مسحات من وسط PDA المائل، ولقح بها 125 مل من وسط (PDB) المعقم الموجود في دورق زجاجي حجم 250 مل، حُضنت الدوارق بدرجة حرارة 30°س مدة 24 ساعة في حاضنة هزازة بسرعة 200 دورة/دقيقة، ثم حفظت في درجة 4°س. أُستخدمت هذه البيئة للعمل اليومي مع مراعاة تجديدها دورياً كل أسبوعين.

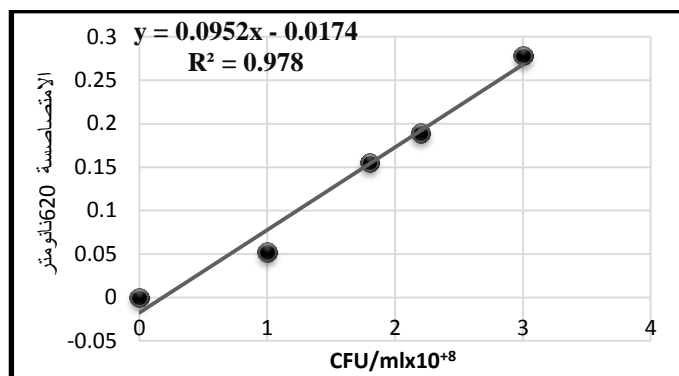
**إكثار الخميرة:** تم إكثار الخميرة المدعمة بالسيلينيوم وتميئتها باستخدام المولاس. حُضر المولاس بتركيز 12%، ثم أضيف لكل 100 مل منه المواد الآتية لتشجيع نمو الخميرة: (1غ) مستخلص خميرة، (2غ) وبيتون، (0.5غ)  $(NH_4)_2SO_4$ ، (0.05غ)  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ، (0.3غ)  $K_2H_2PO_4$ ، (0.014غ) يوريا. جُنست المواد المضافة مع المولاس حتى الذوبان وأضيف سيلينيوم الصوديوم بثلاثة مستويات (15 و 22.5 و 30 ميكروغرام/مل)، كما ضبطت درجة pH للوسط عند ثلاثة مستويات (3 و 4 و 5) وذلك وفق التصميم الموضح في الجدول (2). عقت الأوساط السابقة بالأتوكلاف على درجة 121°س مدة 15 دقيقة، ثم بُردت إلى درجة 30°س.

تلقح الأوساط المحضرة بالخميرة المنشطة والتحضين: لُقح كل دورق بـ 2% من المزرعة السائلة لخلايا الخميرة المنشطة، وحُضنت الدوارق على درجات الحرارة التالية: 30- 31.5- 33س مدة 24 ساعة في حاضنة هزازة، وبسرعة دوران 200 دورة/دقيقة؛ وذلك لكل تركيز من السلينيت ودرجة الحموضة وفق معاملات التصميم الإحصائي (الجدول، 2).

**الفرز والتجفيف:** فصلت الخميرة النامية عن سائل التخمير باستخدام جهاز طرد مركزي بسرعة دوران 5000 دورة /دقيقة مدة (10دقائق). ثم عُسلت الخميرة بالماء المقطر ثلاث مرات. جففت الخميرة الناتجة في فرن التجفيف بدرجة 40س حتى ثبات الوزن، ثم حُسب الوزن الجاف للخلايا (غ/ل).

**تقدير التعداد الكلي لخلايا الخميرة المدعمة بالسيلينيوم:** حُضِر معلق مائي من خميرة الخباز الجافة النشطة بتركيز 0.01 غ/مل ( $10^{-2}$ )، مُزج المعلق جيداً وحُضرت منه سلسلة من التخفيفات ( $10^{-3}$  إلى  $10^{-8}$ ) باستخدام ماء ببتوني معقم وقُرئَت الامتصاصية الضوئية لكل تخفيف باستخدام جهاز المطياف الضوئي على طول موجة 620 نانومتراً. حُسبت أعداد الخلايا لكل تخفيف بزراعة 0.1 مل من المعلق على وسط من PDA، والتحضين في درجة حرارة 25س مدة 48 ساعة. ورُسِمت العلاقة بين الامتصاصية الضوئية والتعداد الكلي لخلايا الخميرة (CFU/ml)، (الشكل، 1).

قُدِر التعداد الكلي لخلايا الخميرة المدعمة بالسيلينيوم الناتجة؛ وذلك بأخذ (0.05) غ من خميرة السيلينيوم المجففة بعد كل معاملة وعُلقت في 5 مل من الماء المقطر، ومُزجت جيداً، وقُدِرت الامتصاصية عند طول موجة 620 نانومتراً وعبر عن النتيجة كـ CFU/ml. (Muthukumar و Rajashree، 2013).



الشكل (1): المنحنى القياسي للتعداد الكلي لخلايا الخميرة

### 2-3- تصميم التجربة والتحليل الإحصائي:

تصميم التجربة لدراسة أفضل الظروف لإنتاج الخميرة المدعمة السيلينيوم:

درست الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة بوجود المتغيرات الآتية : (تركيز السيلينيوم، ودرجة الحموضة، ودرجة الحرارة)، ودرس كل متغير عند ثلاثة مستويات (1-، 0، 1+)، كما هو مبين في الجدول (1) ، وتضمن التصميم 30 معاملة و 3 متغيرات كما هو موضح في الجدول (2)

الجدول (1): مستويات المتغيرات المستخدمة في أمثلة إنتاج خميرة السيلينيوم

المستويات			المتغير
1-	0	1+	
15	22.5	30	تركيز سيلينيت الصوديوم (ميكروغرام/مل)
3	4	5	pH
30	31.5	33	درجة الحرارة

واستخدم تصميم التجارب المتقدم (RSM) Response Surface Method باستخدام برنامج Mintab Optimizatio Method لدراسة تأثير كل عامل على حدة، وتأثير العوامل المتفاعلة مع بعضها بعضاً من أجل تحديد الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية والسيلينيوم الكلي والعضوي في الخميرة

-التحليل الإحصائي: عُبر عن العلاقة بين المعاملات المدروسة في الخميرة والمتغيرات الثلاثة بمعادلة من الدرجة الثانية ما يأتي:

$$Y=a+bX_1+cX_2+dX_3+eX_1^2+fX_2^2+gX_3^2+hX_1*X_2+iX_1*X_3+jX_2*X_3$$

إذ: y المعامل المدروس Response (الكتلة الحيوية، وتركيز السيلينيوم).

$X_1$ : تركيز سيلينيوم الصوديوم.

$X_2$ : درجة الحموضة.

$X_3$ : درجة حرارة التحضين.

a: المعامل الثابت constant

b,c,d: المعاملات الخطية (Linear effect).

e,f,g: المعاملات المنحنية (Squares effect).

h,i,j: المعاملات المتداخلة (Interaction effect).

وقد أُجريت تحليل الانحدار Regression وتحليل التباين للمعاملات المدروسة .



الجدول (2): تصميم التجربة لأمثلة إنتاج خميرة *Saccharomyces cerevisiae*

المدعمة بالسيلينيوم:

عدد المعاملات	Blocks	Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (مكغ/مل)	Se (ميكروغرام /مل)	pH	درجة الحرارة °س
1	1	30	13.70	5	33
2	1	15	6.85	3	30
3	1	30	13.70	5	30
4	1	30	13.70	3	33
5	1	22.5	10.27	4	33
6	1	15	6.85	3	33
7	1	30	13.70	3	30
8	1	15	6.85	5	30
9	1	22.5	10.27	5	31.5
10	1	15	6.85	4	31.5
11	1	30	13.70	3	30
12	1	30	13.70	5	30
13	1	30	13.70	3	33
14	1	15	6.85	4	31.5
15	1	22.5	10.27	5	31.5
16	1	22.5	10.27	4	33
17	2	15	6.85	5	33
18	2	30	13.70	3	33
19	2	30	13.70	5	30
20	2	15	6.85	3	30
21	2	30	13.70	4	31.5
22	2	22.5	10.27	3	31.5
23	2	22.5	10.27	4	30
24	2	15	6.85	5	33
25	2	15	6.85	5	30
26	2	15	6.85	3	33
27	2	30	13.70	5	33
28	2	30	13.70	4	31.5
29	2	22.5	10.27	3	31.5
30	2	22.5	10.27	4	30

## 3-النتائج والمناقشة:

يوضح الجدول (3) أهم المؤشرات التي حُدِّتْ للمولاس المستخدم في عملية إكثار الخميرة، إذ يُلاحظ غنى المولاس المستخدم بالسكر والعناصر المعدنية.

## الجدول (3): الخصائص الكيميائية والفيزيائية للمولاس

المؤشرات المدروسة	القيمة
تركيز المادة الجافة %	77
السكر %	48.9
درجة الـ pH	6.4
الرطوبة %	23
الرماد %	8.3
الكثافة (غ/سم <sup>3</sup> )	1.36
%Ca	6
%Na	0.74
%Cl	1.065
%K(K <sub>2</sub> O)	1.5
%P (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	0.85

كما يوضِّح الجدول (4) مؤشرات نمو الخميرة المدعمة بالسيلينيوم (الكتلة الحيوية وتعداد الخلايا ولون الخميرة) التي أنتجت في ظروف إنتاج مختلفة من تركيز سيلينيوم الصوديوم ودرجة الحموضة ودرجة حرارة التحضين

تأثير تركيز سيلينيوم الصوديوم في إنتاج خميرة *S. cerevisiae* المدعمة بالسيلينيوم:

بيَّنت نتائج الأمثلة الموضَّحة في الشكل (2) أنَّ التركيز المثالي من سيلينيوم الصوديوم اللازم لإنتاج كتلة حيوية مدعمة بالسيلينيوم هو 22.5 (ميكروغرام/مل)؛ وذلك ضمن ظروف التجربة المثالية (pH=5، ودرجة الحرارة 31.5°س) إذ بلغت قيمة الكتلة الحيوية 2.3010 غ/ل. كانت هذه النتائج متقاربة مع Esmaili وزملائه (2012) الذين وجدوا أنَّ إضافة (25 ميكروغرام/مل) من سيلينيوم الصوديوم إلى بيئة نمو الخميرة يؤدي إلى الحصول على أفضل نمو للكتلة الحيوية.

الجدول(4): مؤشرات نمو خميرة *Saccharomyces Cerevisiae* المدعمة بالسيلينيوم وفق ظروف الإنتاج المدروسة.

لون خميرة السيلينيوم	CFU/ml* 10 <sup>9</sup>	*السيلينيوم الكلي (ملغ/كغ) وزن جاف	الكتلة الحيوية (لغ/ل)	درجة الحرارة °س	pH	تركيز Se (مغ/مل)	تركيز Na <sub>2</sub> SeO <sub>3</sub> (مغ/مل)	عدد المعاملات
بني محمر	1.47	15600	3.84	33	5	13.70	30	1
بني محمر	1.12	8940	2.49	30	3	6.85	15	2
بني محمر	16.95	3710	9.44	30	5	13.70	30	3
بني محمر	0.60	29800	0.81	33	3	13.70	30	4
بني محمر	1.95	8030	4.66	33	4	10.27	22.5	5
بني محمر	0.95	4430	3.33	33	3	6.85	15	6
-	0	0	0	30	3	13.70	30	7
بني فاتح	5.92	446	6.01	30	5	6.85	15	8
بني محمر	4.35	27400	7.13	31.5	5	10.27	22.5	9
زهري	9.01	1770	7.11	31.5	4	6.85	15	10
-	0	0	0	30	3	13.70	30	11
بني محمر	16.95	9990	9.93	30	5	13.70	30	12
بني محمر	0.60	29900	0.67	33	3	13.70	30	13
زهري	2.06	1110	4.42	31.5	4	6.85	15	14
بني محمر	5.41	3000	8.25	31.5	5	10.27	22.5	15
زهري	2.16	1560	5.44	33	4	10.27	22.5	16
بني محمر	9.81	3140	8.28	33	5	6.85	15	17
بني محمر	0.50	26520	0.80	33	3	13.70	30	18
بني محمر	14.85	9900	8.95	30	5	13.70	30	19
بني محمر	1.14	2660	2.75	30	3	6.85	15	20
بني محمر	2.23	8740	5.56	31.5	4	13.70	30	21
بني محمر	1.90	3550	5.88	31.5	3	10.27	22.5	22
زهري	1.98	1480	4.81	30	4	10.27	22.5	23
بني محمر	1.92	11040	8.23	33	5	6.85	15	24
زهري	6.87	1074	7.12	30	5	6.85	15	25
بني محمر	1	11090	3.51	33	3	6.85	15	26
بني محمر	1.89	9320	5.92	33	5	13.70	30	27
بني محمر	6.97	2460	7.15	31.5	4	13.70	30	28
بني محمر	0.18	6690	5.74	31.5	3	10.27	22.5	29
بني فاتح	1.74	880	5.75	30	4	10.27	22.5	30

فُذِّر السيلينيوم في الخميرة الناتجة بواسطة جهاز الامتصاص الذري ( Varian spectra 880) مزود بوحدة مولد الهيدريدVGA-77

بيّنت نتائج التحليل الإحصائي الموضّحة في الجدول (5) وجود علاقة تأثير خطي معنوي بين سيلينيت الصوديوم وكمية الكتلة الحيوية المنتجة ( $P > 0.05$ ) ، كما أشارت النتائج إلى أنّ الزيادة في تركيز السيلينيت إلى (30 ميكروغرام /مل) على التركيز المثالي رافقه انخفاض معنوي في الكتلة الحيوية المنتجة وهذا يعود إلى التأثير السام للسيلينيوم في الخميرة، وتثبيطه لقدرة الخلايا على الانقسام بالتراكيز المرتفعة (Ponce وزملاؤه، 2002).

كما يُعزى الانخفاض في الكتلة الحيوية إلى حدوث تغيرات في بنية بروتينات وأنزيمات خلايا الخميرة نتيجة استبدال الكبريت بالسيلينيوم في الأحماض الأمينية الكبريتية، ما أدى إلى خلل وظيفي وتثبيط النشاط المضاد للأكسدة (Seńczuk، 2005).

يبين الجدول(4) إلى أنّ لون الخميرة المنتجة تراوح بين البني الفاتح والزهري والبني المحمر الذي يُعد مؤشراً على اندماج السيلينيوم أو عدم اندماجه داخل خلايا الخميرة.

New	Hi	Si	pH	T
D	Cur	30.0	5.0	33.0
0.00503	Lo	[22.50]	[5.0]	[31.50]
		15.0	3.0	30.0

<p>Biomass Maximum <math>y = 2.3010</math> <math>d = 0.00503</math></p>	
---	--

الشكل (2) الظروف المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية من خميرة *S. cerevisiae*

### تأثير الـ pH في إنتاج خميرة *S. cerevisiae* المدعمة بالسيلينيوم:

دُرِسَ إنتاج الكتلة الحيوية عند درجات مختلفة من الحموضة للحصول على أعلى إنتاج للكتلة الحيوية الجافة وتحقق ذلك عند الـ  $pH = 5$  ضمن الظروف الأفضل للإنتاج، كما هو مبين في الشكل (2) .

كان لدرجة الحموضة تأثير معنوي في إنتاج الكتلة الحيوية، إذ كانت قيمة  $(P > 0.05)$  في حين لم يكن لـ  $(pH)^2$  (Squares effect) تأثير معنوي في إنتاج الكتلة الحيوية  $(P < 0.05)$ . كانت هذه النتائج غير متوافقة مع النتائج التي أشار إليها Yin وزملاؤه (2010) بأن درجة الحموضة المثالية للحصول على أفضل إنتاج من الخميرة المدعمة بعنصر السيلينيوم كان عند  $pH = 5.8$  يمكن أن يُعزى هذا الاختلاف إلى الاختلاف في التركيب الكيميائي للركيزة المستخدمة في الإنتاج، وإلى الاختلاف في سلالة الخميرة المستخدمة.

### تأثير درجة الحرارة في إنتاج خميرة *S. cerevisiae* المدعمة بالسيلينيوم:

يُلاحظ من خلال الشكل (2) أنّ درجة الحرارة المثالية لإنتاج الكتلة الحيوية لخلايا الخميرة هي 31.5°س، وذلك ضمن الظروف المثالية للتجربة، كما أشارت النتائج إلى أنّ درجة الحرارة لها تأثير خطي معنوي مع الكتلة الحيوية. معادلة من الدرجة الثانية ومعنوية بين الحرارة والكتلة الحيوية المنتجة وذلك نتيجة التأثير المعنوي (درجة الحرارة) في الكتلة الحيوية المنتجة، إذ كانت قيمة  $(P > 0.05)$  الجدول (5). كما بيّنت نتائج الأمثلة الموضّحة في الشكل (1) أنّ رفع درجة حرارة التحضين عن الحرارة المثالية لنمو الخميرة أدى إلى تشكيل عدد من الأسترات والمركبات الضارة التي أثرت سلباً في سلامة نمو الخميرة، وهذا ما يفسّر الانخفاض المعنوي الحاصل للكتلة الحيوية عند رفع درجة الحرارة إلى 33°س. وجاءت النتائج غير متوافقة مع ما أشار إليه Marinescu وزملاؤه (2010) الذين وجدوا أنّ درجة الحرارة المثالية لإنتاج خميرة مدعمة بالسيلينيوم على بيئة المولت باستخدام خميرة *Saccharomyces uvarum* هي 30°س. في حين سجل Yin وزملاؤه (2009) أنّ درجة الحرارة المثالية لإنتاج خميرة مدعمة بالسيلينيوم كانت 28°س.

الجدول (5): تأثير العوامل المدروسة في إنتاج الكتلة الحيوية إحصائياً

P	T	SE Coef	Coef	Term
0.001	-3.858	54.061	-208.577	الثابت
0.015	2.679	0.2138	0.573	السيلينيوم
0.025	2.44	1.7207	4.199	pH
0.002	3.583	3.4524	12.37	درجة الحرارة
0.318	-1.026	0.0022	-0.002	<sup>2</sup> (السيلينيوم)
0.531	-0.637	0.1229	-0.078	(pH) <sup>2</sup>
0.003	-3.355	0.0546	-0.183	<sup>2</sup> (درجة الحرارة)
0.025	2.438	0.0087	0.021	pH*السيلينيوم
0.005	-3.139	0.0058	-0.018	درجة الحرارة*السيلينيوم
0.021	-2.506	0.0435	-0.109	درجة الحرارة*pH

تأثير العوامل المتداخلة في خميرة *S. cerevisiae* المدعمة بالسيلينيوم:

يبين التحليل الإحصائي الجدول (5) وجود علاقة تفاعل متبادل معنوي بين المتغيرات المدروسة بتأثيرها في إنتاج الكتلة الحيوية ( $P > 0.05$ )، وبلغت قيمة معامل التحديد  $R^2 = 90.4\%$ ؛ وهذا يدل على أن العوامل الثلاثة (سيلينيت الصوديوم - درجة الحرارة - pH) مسؤولة عن 90.4% من مقدار التغير في الكتلة الناتجة. واعتماداً على الجدول (5) يمكن كتابة المعادلة التي تربط المتغيرات المدروسة مع الكتلة الحيوية الناتجة كما يأتي:

$$Y = -208.577 + 0.573X_1 + 4.199X_2 + 12.37X_3 - 0.002X_1^2 - 0.078X_2^2 - 0.183X_3^2 - 0.018X_1X_2 - 0.109X_2X_3 + 0.021X_1X_3$$

## الاستنتاجات:

بناءً على ما تقدم من التجارب المخبرية نجد أن أفضل الظروف للحصول على أعلى إنتاج من الكتلة الحيوية (2.3010 غ/ل) من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* يكون بإضافة سيلينيت الصوديوم إلى بيئة المولاس بتركيز (12%)، وضبط درجة pH عند 5، والتحصين في درجة حرارة 31.5°س.

## المراجع

### المراجع العربية

- الأكشر، بيان. 2015. أمثلة ظروف إنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز باستخدام بيئة مستخلص التمور والمولاس. رسالة ماجستير، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية .

### المراجع الأجنبية

- AAFCO. 2003. Page 285 in Feed Ingredient Definitions. 57. Mineral Products. Tentative T57.163. Official publication. Association of American Feed Control Officials Inc., Olympia, WA .
- Bryszewska, M.A; W. Ambroziak; A. Diowksz; M.J. Baxter; N.J. Langford ; and J. Lewis. 2005. Changes in the chemical form of selenium observed during the manufacture of selenium-enriched sourdough bread for use in a human nutrition study. Journal of Food Additive Contamination, 22: 135-140.
- Clark, L. C; G. F. Combs; B. W.Turnbull; E. H .Slate; D. K.Chalker Chow ; J.Davis; L. S. Glovar; R. A. Graham; G.F. Gross, E. G. A.Krongrad; J. L. Lesh; K.Park; B. S.Sanders; C. L. Smith; and J. R Taylor. 1996 . for the Nutritional Prevention of Cancer Study Group.Effect of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin: A randomized controlled trial. Journal of the American Medical Association, 276: 1957–1963.
- Dimitrov, S ; V.Atanasov ; PF. Surai; and PF. Denev . 2007. Effect of organic selenium on turkey semen quality during liquid storage. Anim Reprod Sci,100:311-317.
- Esmaeili,S; K. Khosravi-Darani; R. Pourahmad; and R. Komeili .2012 .An Experimental Design for Production of Selenium-Enriched Yeast. World Applied Sciences Journal, 19 (1): 31-37.
- Fairweather-Tait ,S.J;Y. Bao; M.R. Broadley; R.Collings; D. Ford; J.E .Hesketh; and R.Hurst. 2011.Selenium in human health and disease,Antioxidants and Redox Signalling. 14: 1337-1383.
- Hamilton, S.J. 2004 .Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. Science of the Total Environment ,326:1–31.

- ICUMSA method book. 2000. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis .
- Mahmoud, K. Z ; and F. W. Edens . 2003 .“Influence of selenium sources on age-related and mild heat stress-related changes of blood and liver glutathione redox cycle in broiler chickens (Gallus domesticus), ”Comparative Biochemistry and Physiology B,136 :921–934.
- Marinescu ,G; A.G. Stoicescu; and L.Teodorof. 2010. Selenium yeast from spent brewer’s yeast. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies,16:341-345.
- Ponce de Leon, C. A; M. M.Bayon;C. Paquin; and J. A. Caruso. 2002 . Selenium incorporation in to *Saccharomyces cerevisiae* cells: a study of different incorporation methods. Journal of Applied Microbiology, 92:602–610.
- Rajashree, K; and T.Muthukumar. 2013. Preparation of Organic Selenium Yeast by Fed Batch Fermentation. Intl. J. Food. Ferment. Technol. 3: 135-142.
- Rayman M.P.2000. The importance of selenium to human health. Lancetx, 356:233-241.
- Seńczuk, W. 2005 .Toksykologia współczesna. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa.435–440.
- Simon, M.; M.Waszyk - Nowaczyk; and K.Książek. 2011. Starzenie się organizmów prokariotycznych. Postępy Hig Med Dośw 65:509 –514.
- Spallholz, J.E. 1994 .On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. Free Radical Biology and Medicine; 17: 45-64.
- Yin, H; G. Fan; and Z. Gu .2010.Optimization of culture parameters of selenium-enriched yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) by response surface methodology (RSM). LWT Food Sci Technol 43:666–669.
- Yin, H; Z.Chen ;Z.Gu; and Y. Han. 2009. Optimization of natural fermentative medium for selenium – enriched yeast by D-optimal mixture design, LWT – Food Science andTechnology, 42:327-331.

Received	2016/4/6	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2016/7/10	قبول البحث للنشر