أمثلة بعض ظروف إنتاج الإيثانول الحيوي من عصارة الذرة البيضاء السكرية باستخدام عزلات محلية من خميرة *Saccharomyces cerevisiae*

د.نسرين نقشو(1)، *د.جهاد سمعان، م.نهى سلطان، م.ريم حمد

قسم التخمير، الهيئة العامة للتقانة الحيوية، دمشق

*قسم الأغذية، كلية الهندسة الزراعية، جامعة دمشق

nisrin.marwan1968@gmail.com

الملخص:

نفذت التجارب في مخبر التخمير التابع للهيئة العامة للتقانة الحيوية، بهدف دراسة الشروط المثلى لإنتاج الايثانول الحيوي باستخدام عزلات محلية من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* وقد اختيرت عصارة الذرة البيضاء السكرية كركيزة بسبب المحتوى العالي من السكريات القابلة للتخمير (السكروز، الغلوكوز، الفركتوز) بالإضافة لقلة تكلفتها باعتبارها مخلفات نتجت عن زراعة محصول الذرة العلفي. تم تحليل النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي Manitab. وتم قياس السكر المتبقي من عملية التخمير التي جرت تحت تأثير أربع معاملات، وهي درجة الحموضة (PH) (5.5 و6 و6.5)، ودرجة الحرارة (28C، 30C، 32C) وحجم اللقاح (7٪، 10٪،

13٪) وسرعة دوران (rpm)(100، 150، 200) دورة في الدقيقة. وتم تسجيل الحد الأقصى لمحتوى السكر بعد انتهاء عملية التخمير، وتم تقدير الفروق المعنوية على مستوى ثقة 95%. تم التوصل إلى أن اعلى مردود من الإيثانول كان عند درجة الحموضة (5.5) ودرجة حرارة (30C) وحجم اللقاح 10٪ وسرعة دوران (200 rpm) دورة في الدقيقة وبلغت اعلى قيمة للمردود 62.31 % (حجم /وزن) عندما كانت نسبة الإيثانول8.1% (v\v) وقيمة الإنتاجية 2.66 (غ/ل/سا) أكدت نتائج هذه الدراسة على إمكانية استخدام عصارة الذرة البيضاء السكرية كركيزة مثالية اقتصادية لإنتاج الإيثانول الحيوي، وما يمثل ذلك من أهمية زراعية وبيئية واقتصادية وصناعية.

الكلمات المفتاحية: الإيثانول الحيوي، عصارة، الذرة السكرية، التخمير، *Saccharomyces cerevisiae*

Optimization of some conditions for bioethanol production from sweet sorghum sap using local strains of *Saccharomyces cerevisiae*

Dr. Nisreen Naqsho, Dr. Jihad Semaan*

Eng. Noha Sultan, Eng. Reem Hamad

Fermentation Department, the National Commission for Biotechnology, Damascus
***Food Department, Faculty of Agricultural Engineering, Damascus University**

Abastract:

The experiments were carried out in Fermentation Laboratory of the National Commission for Biotechnology, with the aim of studying the optimal conditions for the production of bioethanol using local strain of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The sugary sap of sweet sorghum was chosen as a substrate due to its high content of fermentable sugars (sucrose, glucose, fructose) in addition to its low cost as a waste. Resulted from the cultivation of fodder corn. The results were analyzed using Manitab statistical analysis program. The remaining sugar was measured from the fermentation process, which took place under the influence of four parameters, pH (5.5, 6, and 6.5), temperature (28C, 30C, 32C) and inoculum volume of (7%, 10%, 13%) and rotation speed (rpm) (100, 150, 200) rpm. The maximum sugar content was recorded

after the end of the fermentation process, and significant differences were estimated at a 95% confidence level. It was found that the highest yield of ethanol was at pH (5.5), temperature (30C), inoculum volume of 10%, and rotation speed of (200 rpm) rpm. The highest value of yield was 62.31% (volume/weight) when the percentage of ethanol was 8.1%. (v\v) and the productivity value is 2.66 (g/l/h). The results of this study confirmed the possibility of using the sugary sap of sweet sorghum as an ideal economic substrate for the production of bioethanol, and the agricultural, environmental, economic and industrial importance that this represents.

Keywords: bioethanol, juicer, sweet sorghum, fermentation, *Saccharomyces cerevisiae*

1.مقدمةIntroduction:

يتزايد الطلب على الطاقة يومًا بعد يوم بسبب النمو الهائل في عدد السكان. ولم يرتبط هذا الطلب في الماضي فقط، بل يمثل أزمة مستمرة بسبب التقدم التكنولوجي والزيادة المستمرة في عدد السكان. وقد تسارعت أزمة الوقود بسبب الاستنزاف السريع لاحتياطيات الوقود الأحفوري التقليدية الموجودة بشكل طبيعي مثل البنزين والديزل والكيروسين والفحم وما إلى ذلك [1]. هناك حاجة ملحة للبحث عن مصادر بديلة للطاقة غير النفطية بحيث تكون هذه المصادر نظيفة ومتجددة ولا تتعارض مع تغذية الإنسان، وربما يكون الإيثانول الحيوي هو المنتج الذي يحقق هذه الغاية باعتباره مصدراً واعدًا للحصول على الوقود الحيوي من مصادر بيولوجية من خلال تخمير النشا والسكريات والسيللوز أو غيرها من المنتجات الثانوية للأغذية الصناعية [2]. يُظهر الإيثانول الحيوي العديد من الخصائص مثل ارتفاع رقم الأوكتان، وسرعة أعلى للتبخر ممايؤدي إلى احتراق أكثر كفاءة مع انبعاث أقل للغازات الدفيئة باعتبار أن إنتاج الإيثانول الحيوي يتم عن طريق التخمر الميكروبي[3].

يحظى تحويل الكتلة الحيوية لإنتاج الطاقة بتشجيع كبير في الوقت الحاضر بين العديد من البلدان من أجل تلبية احتياجاتها من الطاقة. ويلعب إنتاج الطاقة من خلال المواد الخام الزراعية ومخلفاتها دوراً رئيسياً في تلبية تلك الاحتياجات، ويعد ساق الذرة الرفيعة الحلوة أحد هذه المخلفات الحيوية المهمة المستخدمة لإنتاج الإيثانول الحيوي [4]. يعد

الإيثانول أحد المصادر الجيدة للطاقة السائلة المستخدمة للسيارات والصناعات وكما أنه يستخدم كمذيب عالمي وكوقود. لذا مستقبلًا سوف يستخدم الإيثانول كبديل للبترول (الجازوهول) عن طريق مزجه مع البنزين بنسبة 20% [5]. وللوصول إلى الطلب المستقبلي على الإيثانول، يجب إنتاجه بكميات كبيرة من المواد الخام الزراعية. تم إنتاج الإيثانول بشكل أساسي بالطرق الكيميائية ولكن الآن يمكن إنتاجه بشكل فعال باستخدام الميكروبات [6].

1-1-الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في إنتاج الايثانول:

تتميز الخمائر بقدرتها الأيضية على تحويل السكريات إلى كحول إيثيلي وثاني أكسيد الكربون في الظروف اللاهوائية، وتعتبر الخمائر مهمة في صناعات الوقود الحيوي. ويمكن استخدام الخميرة في تخمير المواد الخام مثل النشا والدبس ومصل اللبن ومخلفات الفواكه والخضروات ومخلفات الطعام والليجنوسليلوز والقش وغيرها، لإنتاج منتجات مفيدة من خلال التخمير [7]. ومن بين الخمائر المستخدمة تعد خميرة *S.cerevisia* من الخمائر الشائعة ذات الإنتاجية العالية من الإيثانول حيث تلعب دوراً هاما في القطاعات الاقتصادية والصناعية وذلك لاستخدامها في صناعة الكحول الطبي والوقود الحيوي وغيرها من الأغذية العلاجية وانتاج الأنزيمات والمواد الصيدلانية [8].

تسلك خميرة *S.cerevisiae* نمطين من الحياة، حياة هوائية تستهلك أثناءها المواد السكرية والاملاح المعدنية الموجودة في الوسط مع تحرير طاقة لتنمو وتتكاثر لإنتاج الكتلة الحيوية، وحياة لاهوائية تمثل الخميرة خلالها المواد السكرية وتحولها إلى كحول ايثيلي و CO_2 مع تحرير الطاقة اللازمة لبقائها على قيد الحياة [9].

1-2-الركائز المستخدمة في إنتاج الإيثانول:

- يمكن إنتاج الإيثانول الحيوي من مصادر متجددة مختلفة، كالمواد المحتوية على السكر (مثل قصب السكر، الذرة الرفيعة الحلوة، الشوندر السكري) التي تكون غنية بالسكريات المتخمرة أو من المواد الأولية الغنية بالسكريات المتعددة والتي يتم تحللها لاحقا لتوفير السكريات المتخمرة لإنتاج الإيتانول. [10]
- المخلفات الناتجة عن عملية التصنيع كالمولاس الناتج عن صناعة الشوندر السكري.[11]
- كما يمكن أن تكون هذه المواد عبارة عن مواد أولية تعتمد على النشاء (ذرة، قمح، أرز).
- أو مواد تعتمد على مركبات من السيللوز أو الهيميسيللوز أو اللجنوسليلوز مثل قش الأرز، وتفل قصب السكر، وساق الذرة، والعشب، وقشر الأناناس) [12]

وقد اعتمد الجزء الأكبر في الإنتاج على المخلفات لدعم الاقتصاد القائم على الزراعة والمساعدة في تلبية احتياجات الطاقة في البلدان النامية بسبب عدم وجود احتياطي كاف من الوقود الحيوي.

تعد الذرة الرفيعة الحلوة (*Sorghum bicolor* L. Moench) محصولاً واعداً لإنتاج الإيثانول الحيوي حيث يتميز هذا النبات بارتفاع إنتاجيته وغناه بالكربوهيدرات. يتم الحصول على العصير من ساق الذرة الرفيعة الحلوة على غرار قصب السكر، حيث تحتوي هذه العصارة على مستويات عالية من السكر (12–20%) مكونة بشكل رئيسي من السكروز والغلوكوز والفركتوز، وهي ركائز جيدة لإنتاج الإيثانول بعملية التخمير.[13]. اما الكتلة الحيوية اللجنوسليلوزية والتفل الناتجين عن عملية العصر فلهما العديد من الاستخدامات المحتملة كإنتاج الإيثانول الحيوي والهيدروجين والميثان كمصادر للوقود او كعلف للحيوانات يتميز بقيمة تغذوية اعلى من تلك الموجودة في تفل قصب السكر [14].

كما تعتبر الذرة الرفيعة الحلوة أيضًا محصول طاقة عالي الكفاءة لأنه يتطلب استخدامًا أقل للأسمدة والمياه، وله قدرة واسعة على التكيف للزراعة. حيث تحتاج زراعتها متطلبات زراعية منخفضة نسبيًا وتستمر لفترة قصيرة من 3 إلى 5 أشهر حسب الصنف، وتتناسب مع العديد من دورات إدارة المحاصيل المزدوجة [15].

هناك العديد من العوامل التي تؤثر على إنتاج الإيثانول، مثل تركيز الركيزة، نوع الميكروب المستخدم، وتركيز اللقاح، ودرجة الحموضة، ومصدر النيتروجين، والمكملات المغذية الكبرى والصغرى، ويعتمد تأثير هذه العوامل في إنتاج الإيثانول على عدة عوامل، مثل الأنواع الميكروبية، وظروف التخمير، وأنواع المواد الخام [16].

1-3- العوامل المؤثرة في إنتاج الإيثانول:

1-3-1 تأثير درجة الحرارة:

تعد درجة الحرارة عاملاً مهمًا يتم تنظيمه بعناية أثناء عملية التخمير حيث أن لها تأثيرًا حيويًا على العملية وإنتاج الإيثانول. وأفيد أيضًا أن إنتاج الإيثانول يعتمد على درجة حرارة التخمير وإلى حد ما يزداد تركيزه مع زيادة درجة الحرارة [17]. ومع ذلك، تعتبر درجة الحرارة المرتفعة عامل إجهاد للكائنات الحية الدقيقة، وهو أمر غير مناسب لنموها، إذ أنه من الممكن أن تحصل الصدمة الحرارية للبروتينات استجابة لارتفاع درجة الحرارة، وعلاوة على ذلك، تتمتع الكائنات الحية الدقيقة المستخدمة في عملية التخمير بنطاق درجة حرارة مثالي لنموها بشكل أفضل. لذلك، من الضروري تحديد درجة الحرارة المثلى مسبقًا أثناء التخمير من أجل النمو الميكروبي المناسب بالإضافة إلى إنتاج أعلى من الإيثانول. من المعتقد عمومًا أن نطاق درجة حرارة التخمير المثالي يتراوح بين 20 و35 درجة مئوية وأن درجة الحرارة المرتفعة في جميع عمليات التخمير تقريبًا تخلق مشكلة [18]. درجة حرارة التخمير المثلى للخلايا الحرة لـ *S. cerevisiae* تقترب من 30 درجة

مئوية [18]، وفي دراسة أجريت على عصير الذرة الرفيعة الحلوة باستخدام خلايا الخميرة، بينت العديد من الدراسات المرجعية أنه عند 28 درجة مئوية كان إنتاج الإيثانول75.79 %، وقد وصل هذا الإنتاج إلى حده الأقصى (89.89%) عند 37 درجة مئوية [19]. وبالمثل، لوحظ أيضًا تأثير ضار على تركيز الإيثانول باستخدام هذه الكائنات الحية الدقيقة عند درجة حرارة أعلى من 37 درجة مئوية من قبل العديد من الباحثين [20]، وبالتالي فإن ضبط درجة الحرارة يعد من أهم عوامل زيادة المردود من الإيثانول.

1-3-2 تأثير درجة الحموضة (pH):

تؤثر درجة الحموضة بشكل مباشر في الأحياء المخمرة في الوسط والعميات الحيوية الخلوية لهذه الأحياء، حيث يؤثر تركيز شوارد الهيدروجين في الوسط على نفاذية جدران الخلايا للعناصر المغذية وبالتالي فإن ضبط درجة الحموضة يعد من أهم عوامل زيادة المردود من الإيثانول [21]. يمكن الحصول على إنتاج معزز للإيثانول من خلال التخمير عن طريق التحكم في درجة حموضة الوسط لأنه أحد العوامل الرئيسية لإنتاج الإيثانول الذي له تأثير مباشر على الكائنات الحية وكذلك على عملياتها الخلوية [22]. بشكل عام، يمكن أن تؤدي تركيزات H^+ في وسط التخمير إلى تغيير الشحنة الإجمالية لغشاء البلازما مما يؤثر على نفاذية بعض العناصر الغذائية الأساسية إلى الخلايا. مجال درجة الحموضة الأمثل لنمو *S. cerevisiae* المستخدمة في التخمير لإنتاج

الإيثانول هو(4-5) [21]. ومع ذلك، فقد أفيد مؤخرًا أن هذه الخميرة المعروفة يمكنها إنتاج الإيثانول من عصائر التمر حتى عند درجة حموضة3.8 [23]. على الرغم من أن درجة الحموضة الحرجة لهذا الكائن هي2.3 [22]. كما بينت دراسات أن درجة حموضة المثالية للعديد من المواد الأولية يختلف من مادة لأخرى حيث كانت الدرجة المثلى تتراوح بين 2.8 إلى 3.4 لعصير قصب السكر[24] و4 إلى 4.5 للسكروز [25]. وبالتالي فإن ضبط درجة الحموضة يعد عاملاً مهماً لزيادة المردود من الإيثانول.

1-3-3- تأثير حجم اللقاح:

ليس لحجم اللقاح تأثير كبير على تركيز الإيثانول النهائي ولكنه يؤثر بشكل كبير على معدل استهلاك السكر وإنتاجية الإيثانول [26] ومع ذلك، وقد بينت الدراسات زيادة إنتاج الإيثانول مع زيادة أعداد الخلايا الأولية من 1×10^4 إلى 1×10^7 خلايا/مل ولم يتم العثور على فرق كبير في إنتاج الإيثانول بين 10^7 و10^8 خلايا/مل. تؤدي زيادة تركيز الخلايا ضمن مجال معين أيضًا إلى تقليل وقت التخمير بشكل كبير بسبب النمو السريع للخلايا في وسط التخمير الذي يستهلك على الفور السكريات المغذية التي تنتج الإيثانول. ذكرت بريشا [27] أنه تم العثور على انخفاض في وقت التخمير من 72 ساعة إلى 48 ساعة عن طريق زيادة تركيز الخميرة من3.0٪ إلى 6.0٪.

1-3-4- تأثير سرعة الدوران:

تلعب سرعة الدوران دورًا مهمًا في الحصول على إنتاج أعلى من الإيثانول أثناء التخمير عن طريق زيادة نفاذية العناصر الغذائية من وسط التخمير إلى داخل الخلايا وبنفس الطريقة إزالة الإيثانول من داخل الخلية إلى وسط التخمير. فهو يزيد أيضًا من استهلاك السكر ويقلل من تأثير التراكيز العالية للإيثانول على الخلايا. معدل التقليب المفيد هو 150-200 دورة في الدقيقة لخلايا الخميرة أثناء التخمير. أبلغ ليو وشين [19] عن الحد الأقصى لإنتاج الإيثانول (85.73٪) عند 200 دورة في الدقيقة. ومع ذلك، فإن سرعة الدوران الزائدة غير مناسبة لإنتاج الإيثانول على نحو سلس بسبب الأنشطة الأيضية المحدودة للخلايا.

2-هدف البحثObjective:

يهدف هذا البحث إلى أمثلة أهم شروط إنتاج الايثانول الحيوي (درجة الحرارة، درجةPH، حجم اللقاح، سرعة الدوران) بالتخمير بواسطة خميرة *Saccharomyces cerevisiae* على ركيزة من العصارة السكرية لساق نبات الذرة البيضاء الرفيعة الحلوة باعتبار هذه السوق من المخلفات الزراعية لتسهيل التخلص من النفايات والتلوث البيئي وتخفيض تكاليف الإنتاج.

3- مواد و طرائق البحثMaterials and Methods:

3-1-مصادر سلالة الخميرة (البادئ) وطريقة إكثارها:

تم الحصول على سلالة الخميرة *Sacchromyces cerevisiae* BR1 من مخبر التخمير في الهيئة العامة للتقانة الحيوية [28]

3-2-تحضير البادئ (تنشيط الخميرة):

نشطت الخميرة على أطباق تحتوي بيئة مغذية PDA (Potatoe Dextrose Agar) ثم حضنت على الدرجة 30C ولمدة 24 ساعة ومن أجل إكثار الخميرة زرعت في وسط YPS (10 غرام باللتر مستخلص الخميرة، 10غرام باللتر ببتون،20 غرام باللتر سكاروز) بعد وضعه في دوارق وضبط درجة الحموضة باستخدام ال pH metre على الدرجة 5.5 ، ثم عقمت هذه الدوارق بالاوتوكلاف بعدها لقح الوسط بالخميرة المنشطة وحضنت الأوساط الملقحة في حاضنات هزازة على درجة 30C وسرعة دوران 200 دورة في الدقيقة لمدة 24 ساعة. استعمل هذا اللقاح لتلقيح عصارة الذرة السكرية بحجوم معينة (7%،10%،13%) V/V من حجم العصارة وحضنت في حاضنات هزازة لمدة 48 ساعة بدرجات حرارة مناسبة كما أوضح الجدول (1).

3-3-الركيزة المستخدمة والاختبارات التي أجريت عليها:

استخدم عصير الذرة البيضاء السكرية من مخبر التنوع الحيوي في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، حيث أجريت عليها العديد من الاختبارات:

3-3-1-تقدير السكريات الكلية: قدرت السكاكر بالمعايرة الحجمية بإرجاع النحاس (طريقة لان وإينون) [29]

3-3-2- تحديد نسبة المواد الصلبة الذائبة باستخدام جهاز الرفراكتومتر. [30]

3-3-3- قياس درجة الحموضة pH لعصارة الذرة باستخدام جهاز ال pH meter. [30]

3-4-تحضير وسط التخمير:

ثفلت عصارة الذرة السكرية 5000داد لمدة 20 دقيقة ثم تم الترشيح للحصول على العصارة السائلة النقية [31] ثم قدرت السكريات الكلية الذائبة (السكريات الأولية قبل التخمير) [29] وتم إضافة 0.2% من اليوريا كمصدر للنيتروجين و 0.34% من مادة دي أمونيوم الفوسفات [28] وحركت باستخدام المحرك المغناطيسي مع عصير الذرة حتى الذوبان. وزعت العصارة السكرية في30 دورق قياس 500 مل بحيث يحتوي كل منها على 200 مل عصارة وضبطت درجات الحموضة المناسبة وتم تعقيم الدوارق

بالاوتوكلاف على درجة 121 درجة مئوية لمدة 15 دقيقة ثم تمت عملية التلقيح وحضنت الدوارق في حاضنة هزازة وفقاً للمعاملات التالية الجدول (1)

الجدول (1) معاملات (درجة حرارة، درجة PH، حجم لقاح، سرعة الدوران)

درجة الحرارة	pH	سرعة الدوران د/د	حجم اللقاح %
32	5.5	100	7
28	6.5	100	7
28	5.5	200	7
32	6.5	200	7
28	5.5	100	13
32	6.5	100	13
32	5.5	200	13
28	6.5	200	13
30	6	150	10
30	6	150	10
28	5.5	100	7
32	6.5	100	7
32	5.5	200	7
28	6.5	200	7
32	5.5	100	13
28	6.5	100	13
28	5.5	200	13
32	6.5	200	13

10	150	6	30
10	150	6	30
10	150	6	28
10	150	6	32
10	150	5.5	30
10	150	6.5	30
10	100	6	30
10	200	6	30
7	150	6	30
13	150	6	30
10	150	6	30
10	150	6	30

وبعد انتهاء مدة التخمير التي كانت 48 ساعة تقريباً، تم الحصول على الكحول من الركائز عن طريق فصله باستخدام جهاز تقطير الكحول نوع SELECTA [28]

ولأن عمليات التخمير التي تقوم بها *Saccharomyces cerevisiae* تتعلق بدرجةpH ودرجة الحرارة والركائز وتراكيزها وحجم اللقاحات وما إلى ذلك، كان من الضروري تحسين ظروف التخمير عن طريق أمثلة شروط الإنتاج.

3-5-أمثلة شروط الإنتاج:

3-5-1- دراسة درجات الحموضة ال pH:

درست درجاتpH (5.5 و6 و6.5) وضبطت باستخدام محلول حمض كلور الماء 1N

3-5-2- دراسة درجات الحرارة:

درست درجات الحرارة التالية (28، 30، 32)C ْوبعد التخمير حللت العينات لمعرفة إنتاج الإيثانول والمردود من السكر المتبقي.

3-5-3- دراسة سرعة الدوران:

درست سرعات الدوران التالية (100,150,200) دورة في الدقيقة

3-5-4- دراسة حجم اللقاح:

حضر اللقاح لتلقيح المستخلص العصاري بحجوم (7% ،10%، 13%) حجم/ حجم من الخميرة بالنسبة لحجم العصارة وبعد ذلك حللت العينات بحثًا عن السكر المتبقي غير المتخمر ومعرفة المردود والإنتاجية من الإيثانول.

4-النتائج و المناقشة Result and Discussion:

4-1- نتائج تقدير السكر قبل وبعد عملية التخمير :

تم تقدير السكر الاولي لعصارة الذرة السكرية قبل وبعد عملية التخمير وذلك لمعرفة كمية السكر المستهلك والذي من

خلالها نتعرف قدرة الخميرة على تخمير السكريات وتحويلها والمردود من الايثانول محسوبا على أساس السكر المستهلك وكذلك الإنتاجية وكانت النتائج كما في الجدول (2).

الجدول (2) تركيز السكر قبل وبعد التخمير وكمية السكر المستهلك

Blocks	Temperature	pH	Speed	Inoculum	سكر قبل غ\100مل	سكر بعد غ\100مل	سكر مستهلك غ\100مل
1	32	5.5	100	7	15	1.1	13.9
2	28	6.5	100	7	15	2	13
3	28	5.5	200	7	15	1.8	13.2
4	32	6.5	200	7	15	1.2	13.8
5	28	5.5	100	13	15	2	13
6	32	6.5	100	13	15	1.7	13.3
7	32	5.5	200	13	15	1.5	13.5
8	28	6.5	200	13	15	2	13
9	30	6	150	10	15	2.2	12.8
10	30	6	150	10	15	1.1	13.9
11	28	5.5	100	7	15	1.6	13.4
12	32	6.5	100	7	15	1.9	13.1

13	32	5.5	200	7	15	2	13
14	28	6.5	200	7	15	1.9	13.1
15	32	5.5	100	13	15	1.4	13.6
16	28	6.5	100	13	15	1.1	13.9
17	28	5.5	200	13	15	1.5	13.5
18	32	6.5	200	13	15	2.3	12.7
19	30	6	150	10	15	0.9	14.1
20	30	6	150	10	15	2	13
21	28	6	150	10	15	1.9	13.1
22	32	6	150	10	15	2	13
23	30	5.5	150	10	15	2.3	12.7
24	30	6.5	150	10	15	1.2	13.8
25	30	6	100	10	15	2	13
26	30	6	200	10	15	1.9	13.1
27	30	6	150	7	15	1.5	13.5
28	30	6	150	13	15	1.4	13.6
29	30	6	150	10	15	1.3	13.7
30	30	6	150	10	15	2	13

4-2-دراسة التأثير الخطي للعوامل المدروسة في إنتاج الاتانول والمردود Linearеffect:

نفذت تجارب المعاملات حسب تصميم RMS(response surface methodology)، وقدرت لكل معاملة نسبة الإيثانول (v/v) الناتجة وكمية السكر المستهلك والمردود كما هو مبين في الجدول(2). بينت النتائج ان هنالك فرق معنوي بين كل عامل من العوامل المدروسة وبين كل من نسبة الايثانول والمردود عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك حيث كانت $p<0.05$. الجدول 3

الجدول (3) دراسة التأثير الخطي للعوامل المدروسة في الإنتاجية من لإيثانول

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	1.465	0.159	9.190	0.000
Temperature	−0.078	0.100	−0.781	0.049
PH	−0.149	0.100	−1.501	0.027
Speed	0.198	0.100	1.986	0.038
Inoculum	−0.061	0.100	−0.608	0.014

4-3-دراسة التأثير المربع Square effect: تأثير العوامل المربعة (مثلا Temperatur*Temperature)في نسبة الإيثانول:

بينت نتائج التحليل الإحصائي معنوية التأثير المربع لكل عامل من العوامل المدروسة في كلاً من المردود ونسبة الإيثانول الناتجة حيث كانت $p>0.05$ في كل مرة. الجدول 4

الجدول (4) دراسة التأثير المربع للعوامل المدروسة في الإنتاجية

Term	Coef	SE Coef	T	P
Temperture*Temperture	0.175	0.265	0.659	0.012
PH*PH	−0.050	0.026	−0.189	0.003
Speed*Speed	0.245	0.265	0.923	0.013
Inoculum*Inoculum	−0.020	0.265	−0.076	0.041

4-4-دراسة التأثير التفاعلي (تأثير العوامل المتداخلة في نسبة الإيثانول) Interaction effect:

كما بينت النتائج وجود ست علاقات تداخل بين المتغيرات الأربعة المدروسة وبين نسبة الايثانول والمردود عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك حيث لوحظ فرق معنوي في العلاقة بين درجة الحرارة وكل عامل من العوامل المدروسة (درجة PH

وسرعة الدوران وحجم اللقاح) في نسبة الايثانول الناتج والمردود وكانت $p<0.05$، وكذلك بينت النتائج معنوية العلاقة بين درجة PH وكل من سرعة الدوران وحجم اللقاح كما بينت النتائج معنوية العلاقة بين حجم اللقاح وسرعة الدوران في نسبة الإيثانول والمردود حيث كانت $p<0.05$. الجدول 5 يبين التأثير التفاعلي للعوامل المدروسة في الإنتاجية من الإيثانول

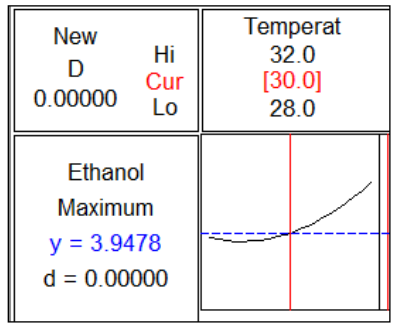
الجدول 5 يبين التأثير التفاعلي للعوامل المدروسة في الإنتاجية من الإيثانول

Term	Coef	SE Coef	T	P
Temperture*PH	−0.214	0.106	−2.024	0.014
Temperture * Speed	0.036	0.106	0.343	0.037
Temperture* Inoculum	0.064	0.106	0.604	0.006
PH* Speed	0.011	0.106	0.107	0.017
PH* Inoculum	0.066	0.106	0.627	0.041
Speed*Inoculum	0.004	0.106	0.036	0.002

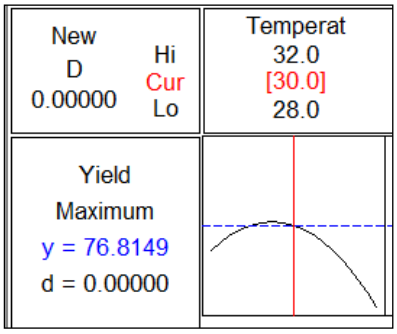
4-5- مناقشة نتائج أمثلة ظروف إنتاج الإيثانول تأثير العوامل المدروسة في نسبة الإيثانول الناتجة والمردود:

4-5-1-تأثير درجة الحرارة:

بينت نتائج التحليل الإحصائي معنوية العلاقة بين درجة الحرارة وكمية الإيثانول المنتجة والمردود، وأظهرت نتائج الأمثلة ان الدرجة 30 C هي الحرارة المثلى لإنتاج الإيثانول من عصارة الذرة البيضاء السكرية حيث أعطت أفضل نسبة من الإيثانول 8.1 ml/100 ml). وهذا يتوافق مع نقشو [28] حيث أن أفضل نسبة إيتانول تم تحقيقها على حرارة 30C وبلغت7.86% حيث تبين النتائج ارتفاع نسبة الإيثانول المنتج مع ارتفاع درجة الحرارة من 28 إلى 30 لكن ارتفاع درجة الحرارة من 30 إلى 32 أدت إلى انخفاض في نسبة الكحول الناتج (5.1-5.4 ml/100 ml)



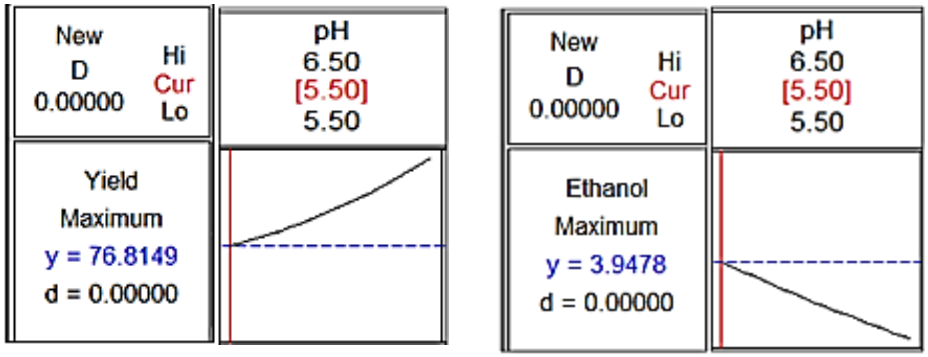
(a



(b

الشكل (1) a). تأثير درجة الحرارة في كل نسبة من الإيثانول الحيوي الناتج b). المردود محسوبا على أساس كمية السكر المستهلك

4-5-2-تأثير درجة الحموضة: بينت نتائج التحليل الإحصائي معنوية تأثير حموضة الوسط في نسبة الإيثانول الناتجة وتشير النتائج المبينة في الجدول (1) قدرة الخميرة على التخمير ضمن درجات حموضة 5.5 و 6 و 6.5 وأن درجة الحموضة المثلى لنمو الخميرة هي 5.5 حيث أعطى أعلى نسبة من الإيثانول (8.1 ml/100 ml) وكانت نسبة السكر المستهلك 13غ/100مل وانخفضت نسبة الإيثانول إلى 5.2 (مل/100مل) عند ارتفاع درجة ال pHإلى 6 وذلك عند تثبيت الشروط الأخرى المثلى للإنتاج وبالمقارنة مع الدراسات السابقة نجد أن هناك اختلافات في درجة pHالأفضل التي تحقق عندها افضل نسبة من الايثانول حيث يتوافق مع ما جاء في الدراسة المرجعية التي قام بها lin وآخرون[21] حيث وجدوا أن اعلى نسبة للإيثانول بالوسط كانت عند pH=5.5 الى 6 حيث ان انخفاض هذه الدرجة عن 5 سيؤدي الى انخفاض نسبة الايثانول وارتفاع نسبة حمض الخل في الوسط كما بين أبو الجدايل() ازدياد نسبة الإيثانول الناتجة مع ارتفاع درجة pHالركيزة من 4 حتى5 ثم انخفضت نسبة الإيثانول الناتجة بارتفاع رقم الحموضة إلى 6 وبالنتيجة مثل رقم الحموضة 5 الدرجة المثلى للإنتاج حيث بلغت نسبة الكحول عنده 8.76مل/100مل .أما بالنسبة للمولاس فقد وجدت نقشو [28] أن افضل درجة pH لخميرة *S.cerevisiae* كانت 5 حيث كانت نسبة الإيثانول الناتج 8 مل/100مل.



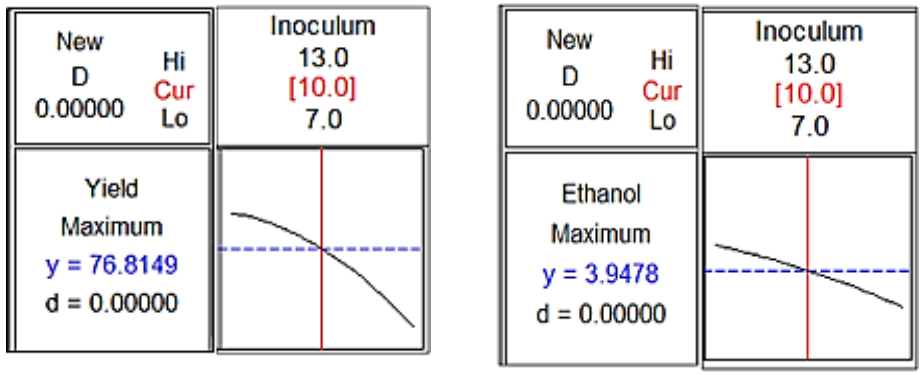
(b (a

الشكل(2) a).تأثير درجة الحموضة في كل نسبة من الإيتانول الحيوي الناتج b). المردود محسوبا على أساس كمية السكر المستهلك

4-5-3-تأثير حجم اللقاح:

أظهرت نتائج الأمثلة تأثير حجم اللقاح على كل من نسبة الإيثانول والمردود حيث كانت الحجم الأمثل هو 10% (v\v) من حجم الركيزة المستخدمة وذلك عند تثبيت الشروط الأخرى المثلى للإنتاج حيث كان المردود62.31 (مل/100غ سكر). زيادة حجم القاح إلى 13% لم تترافق بزيادة في المردود من الإيثانول وانما كان هناك انخفاض في المردود حيث كان بين40-50(مل/100غ سكر) وكذلك انخفاض حجم اللقاح إلى 7% أدى إلى انخفاض المردود إلى 40-50(مل/100غ سكر) عند تثبيت الشروط الأخرى، وهذا يتماشى مع دراسة Nuanpeng [32]

وكذلك بالنسبة للمولاس فقد بينت نقشو [28] أن حجم اللقاح 2.5% أعطى أعلى نسبة من الإيثانول 7.2% وأن زيادة حجم اللقاح إلى 7.5 % أدى إلى انخفاض نسبة الإيثانول إلى 6.96%.

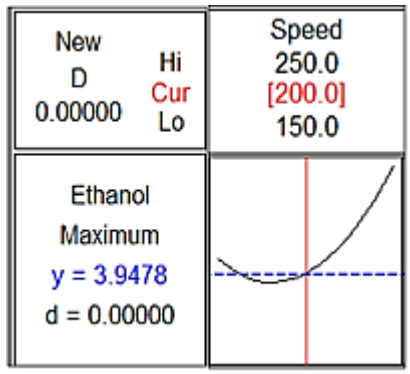


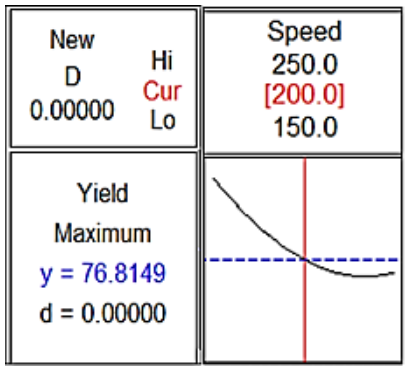
(b (a

الشكل(3) a).تأثير كمية اللقاح في كل نسبة من الإيثانول الحيوي الناتج b). المردود محسوبا على أساس كمية السكر المستهلك

4-5-4-تأثير سرعة الدوران:

أظهرت نتائج الأمثلة تأثير سرعة الدوران على كل من نسبة الإيثانول والمردود حيث كانت سرعة الدوران الأمثل هو 200 دورة بالدقيقة، وذلك عند تثبيت الشروط الأخرى المثلى للإنتاج حيث كان نسبة الكحول8.1%. بينما أدى انخفاض سرعة الدوران إلى انخفاض نسبة الإيتانول المنتجة إلى 5.8%. وهذا يعود إلى أنه كمية صغيرة من الأكسجين لها تأثير إيجابي على تحمل خلايا الخميرة للإيثانول في ظل ظروف التخمير، مما يؤدي إلى إنتاجية أفضل للإيثانول [33]. يتراوح معدل التقليب المفيد من 150 إلى 200 دورة في الدقيقة لخلايا الخميرة في تخمير الإيثانول تحت تركيزات عالية من الركيزة [34]، ووجد أن معدل التحريض الأعلى من 200 دورة بالدقيقة غير مناسب لإنتاج الإيثانول بسبب الأنشطة الأيضية المحددة لخلايا الخميرة [34]





الإستنتاجات والتوصيات Result and Recommendation :

- يمكن الاعتماد على عصير الذرة السكرية في صناعة التخمير بسبب غناه بالسكريات.
- كانت الشروط المثلى لإنتاج الإيتانول باستخدام الخميرة *S.cereviciae* على ركيزة عصير الذرة هي (pH=5.5، 30 □ C، سرعة دوران 200 دورة بالدقيقة، حجم لقاح10%) وتطيقها في معامل إنتاج الكحول، إذ بلغت نسبة الكحول المنتجة 8.1 مل والمردود 62.31 مل/100غ والإنتاجية 2.66 غ/ل/سا.
- إمكانية تطبيق الشروط المثلى للتخمير بواسطة *S.cereviseae* في أنظمة التخمير الأخرى.
- إجراء دراسات تخمير عصارة الذرة البيضاء السكرية لإنتاج الإيثانول باستخدام سلالات من بكتيريا*zymomonas mobilis* ومقارنة المردود من الايثانول مع مردود الإيثانول الناتج باستخدام خميرة *S.cerevis*eae على نفس الركيزة.
- إدخال نبات الذرة البيضاء السكرية في الخطة الزراعية كنبات واعد صديق للبيئة ومتحمل لظروف الجفاف ومتعدد الاستعمالات ومن أهمها انتاج الكحول من عصارة الساق.

المراجع References:

المراجع العربية:

[28] نقشو، نسرين،2014 أمثلة إنتاج الكحول الحيوي من المولاس باستخدام سلالات من خميرة *Sacharomyces* sp. وبكتيريا *Zymomonas mobilis*أطروحة دكتوراة، جامعة دمشق، عدد الصفحات174.

[29] S،C،JAMES – 1998 كيمياء تحليل الأغذية، المركز العربي للتعريب والترجمة والتأليف والنشر دمشق، حدد الصفحات 195

[31]أبو الجدايل، رحيم، 2017 أمثلة إنتاج خميرة الخباز و الإيتانول الحيوي من عصارة الذرة البيضاء السكرية أطروحة دكتوراة، جامعة دمشق، عدد الصفحات 134.

المراجع الأجنبية:

1.GNANSOUNOU, E., DAURIAt, A., & Wyman, C. E. 2005. Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China, **Bioresource technology**, Vol. 96 .9. 985-1002 .*96*(9), 985-1002.

2.IODICE, P., & CARDONA, M 2021 Ethanol/gasoline blends as alternative fuel in last generation spark-ignition engines: a review on CO and HC engine out emissions, **Energies**, Vol. 14.13-4034

3. GRASSI, G 2000 Bioethanol: Industrial world perspectives, **Renewable Energy World**, 3.

4. PRASAD, S., SINGH, A., JAIN, N., & JOSHI, H. C. 2007 Ethanol production from sweet sorghum syrup for utilization as automotive fuel in India, **Energy & Fuels**, Vol. 21.4. 2415-2420.

5. OTTO, M, BRINGEZU, S, SCHULZ, H, BRIEN, M, KAUPPI, L, HOWATH, R, & MCNEELY, J, 2009-**United Nations Environment Programme. Biofuels Working Group, & United Nations Environment Programme. International Panel for Sustainable Resource Managemen**t. Towards sustainable production and use of resources: assessing biofuel*s*. UNEP/Earthprint, France, 25p.

6.REDDY, B. V., KUMAR, A. A., & RAMESH, S 2007 Sweet sorghum: A water saving bio-energy crop **ICRISAT**, Vol. 1-12.

7.ZOU, J., & CHANG, X 2022 Past, present, and future perspectives on whey as a promising feedstock for bioethanol production by yeast **Journal of Fungi**, Vol. 8.4. 395.

8.SATYANARAYANA, T., & KUNZE, G 2009 Yeast Biotechnology, **California Agriculture Technology Institute**, 746.

9.PRONK, J. T., YDE STEENSMA, H., & VAN DIJKEN, J. P 1996 Pyruvate metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*, **Yeast**, Vol.12.16. 1607-1633.

10.SAINI, A., SHARMA, D., & SHARMA, S 2022 Bioethanol: Substrates, Current Status, and Challenges **Status and Future Challenges for Non-conventional Energy Sources Volume**, Vol. 2. 231-269.

11.AYODELE, B. V., ALSAFFAR, M. A., & MUSTAPA, S. I 2020 An overview of integration opportunities for sustainable bioethanol production from first-and second-generation sugar-based feedstocks **Journal of Cleaner Production**, Vol. 245. 118857.

12.REZANIA, S, ORYANI, B, Cho, J, TALAIEKHOZANI, A, SABBAGH, F, HASHEMI, B, RUPANI, P, & MOHAMMADI, A 2020

Different pretreatment technologies of lignocellulosic biomass for bioethanol production: An overview **Energy**, Vol. 199. 117457.

13.MANZANARES, P 2020 The role of biorefinering research in the development of a modern bioeconomy **Acta Innovations**, Vol. 37. 47-56.

14.SPENCER, J. F 1997 -**Yeasts in natural and artificial habitats**. Springer Science & Business Media. Verlag Berlin Heidelberg.135p.

15.AREVALO-VILLENA, M., BRIONES-PEREZ, A., CORBO, M. R., SINIGAGLIA, M., & BEVILACQUA, A. 2017 Biotechnological application of yeasts in food science: starter cultures, probiotics and enzyme production **Journal of applied microbiology**, Vol. 123.6. 1360-1372.

16.PHONG, H. X., KLANRIT, P., DUNG, N. T. P., THANONKEO, S., YAMADA, M., & THANONKEO, P 2022 High-temperature ethanol fermentation from pineapple waste hydrolysate and gene expression analysis of thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae* **Scientific Reports**, Vol.12.1. 13965.

17.MALLOUCHOS, A., KOMAITIS, M., KOUTINAS, A., & KANELLAKI, M 2003 Wine fermentations by immobilized and free

cells at different temperatures. Effect of immobilization and temperature on volatile by-products **Food Chemistry**, Vol. 80. 1. 109-113.

18.PHISALAPHONG, M., SRIRATTANA, N., & TANTHAPANICHAKOON, W 2006 Mathematical modeling to investigate temperature effect on kinetic parameters of ethanol fermentation **Biochemical engineering journal**, Vol. 28. 1. 36-43.

19.LIU, R., & SHEN, F 2008 Impacts of main factors on bioethanol fermentation from stalk juice of sweet sorghum by immobilized *Saccharomyces cerevisiae* (CICC 1308) **Bioresource technology**, Vol. 99. 4. 847-854.

20.LEE, K. J., SKOTNICKI, M. L., TRIBE, D. E., & ROGERS, P. L 1981 The effect of temperature on the kinetics of ethanol production by strains of *Zymomonas mobilis* **Biotechnology Letters**, Vol. 3. 291-296.

21.LIN, Y., ZHANG, W., Li, C., SAKAKIBARA, K., TANAKA, S., & KONG, H 2012 Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742 **Biomass and bioenergy**, Vol. 47. 395-401.

22.KASEMETS, K., NISAMEDTINOV, I., LAHT, T. M., ABNER, K., & PAALME, T 2007 Growth characteristics of *Saccharomyces cerevisiae* S288C in changing environmental conditions: auxo-accelerostat study **Antonie Van Leeuwenhoek**, Vol. 92. 109-128.

23.LOUHICHI, B., BELGAIB, J., & HAJJI, N 2013 Production of bio-ethanol from three varieties of dates **Renewable Energy**, Vol. 51. 170-174.

24.ONSOY, T., THANONKEO, P., THANONKEO, S., & YAMADA, M 2007 Ethanol production from Jerusalem artichoke by *Zymomonas mobilis* in batch fermentation **Current Applied Science and Technology**, Vol. 7(1-1). 55-60.

25.ISONO, Y., & HOSHINO, A 2000 Production of ethanol using granulated yeast cells prepared by a spray dryer **The Journal of General and Applied Microbiology**, Vol. 46.4. 231-234.

26.LAOPAIBOON, L., THANONKEO, P., JAISIL, P., & LAOPAIBOON, P 2007 Ethanol production from sweet sorghum juice in batch and fed-batch fermentations by *Saccharomyces cerevisiae* **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Vol. 23. 1497-1501.

27.BREISHA, G. Z 2010 Production of 16% ethanol from 35% sucrose **Biomass and bioenergy**, Vol. 34.8. 1243-1249.

30.AOAC. Association of Official Analytical Chemists 2005 Official methods of analysis. 18th ed.Washington, USA

32.NUANPENG, S., THANONKEO, S., KLANRIT, P., YAMADA, M., & THANONKEO, P 2023 Optimization conditions for ethanol production from sweet sorghum juice by thermotolerant yeast *Saccharomyces cerevisiae*: using a statistical experimental design **Fermentation**, Vol. 9. 9. 450.

33.ALDIGUIER, A. S., ALFENORE, S., CAMELEYRE, X., GOMA, G., URIBELARREA, J. L., GUILLOUET, S. E., & MOLINA-JOUVE, C 2004 Synergistic temperature and ethanol effect on Saccharomyces cerevisiae dynamic behaviour in ethanol bio-fuel production **Bioprocess and biosystems engineering**, Vol. 26 .4. 217-222.

34.LAOPAIBOON, LAKKANA, & PATTANA LAOPAIBOON 2012 "Ethanol production from sweet sorghum juice in repeated-batch fermentation by Saccharomyces cerevisiae immobilized on corncob" **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Vol. 28. 559-566.