الجمهورية العربية السورية
جـامعـــــة دمشـــــــق
كليـــــــة الـزراعــة
قسـم علــوم الأغذيـــــة

أمثلةُ إنتاج خميرةَ الخباز والإيتانول الحيوي من عصارة الذرة البيضاء السكرية

Optimization of Baker's Yeast and Bioethanol Production From Sugar Sorghum Juice

رسـالة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في علوم الأغذية

م. ر حيـم عبد السلام أبـو الجـدايل

المشرف
الدكتور صالح أبو الخير
أستاذ في قسم علوم الأغذية - جامعة دمشق

المشرف المشارك
الدكتور فـواز العظمــة
أستاذ في قسم وقاية النبات - جامعة دمشق

دمشق 2017 م

قُدّمت هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات نيل درجة الدكتوراه في علوم الأغذية، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

This Thesis has been submitted in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctorate in Food Science, Food Science Department, Faculty of Agriculture, Damascus University.

لجنة الحكم

الأستاذ الدكتور: **صالح أبوالخير**

أستاذ في قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق. عضواً مشرفاً

الأستاذ الدكتور: **عبد الوهاب مرعي**

أستاذ في قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق. عضواً

الأستاذ الدكتور: **عبد الحكيم عزيزية**

أستاذ في قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق. عضواً

الأستاذة الدكتورة: **صباح يازجي**

أستاذ في قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة دمشق. عضواً

الدكتورة: **نسرين مروان نقشو**

باحثة في الهيئة العامة للتقانة الحيوية - وزارة التعليم العالي. عضواً

شـــــــــــــــــــهادة

نشـهد بـأنَّ العمـل الموصـوف فـي هـذه الأطروحـة، نتيجـة بحـث علمـي قـام بـه المرشَّـح رحـيم أبـو الجـدايل تحـت إشـراف الأسـتاذ الـدكتور **صــالح أبــو الخيــر**، الأسـتاذ فـي قسـم علـوم الأغذيـة، فـي كليـة الزراعـة بجامعــة دمشــق، والأســتاذ الــدكتور **فــواز العظمــة**، الأســتاذ فــي قســم وقايــة النبــات فــي كليــة الزراعــة بجامعــة دمشــق، والخبيــر فــي الهيئــة العامــة للتقانــة الحيويــة، وإنَّ أي مراجــع أُخــرى اســتخدمت فــي هــذه الرسالة موثَّقة أصولاً في النص وقائمة المراجع.

المرشَّح	الأستاذ الدكتور	الأستاذ الدكتور
رحيم أبو الجدايل	صالح أبو الخير	فواز العظمة

Certificate

We hereby certify that the work described in this thesis is the result of scientific research, performed by the researcher Rahim Abu-Aljadael under the supervision of Dr. Saleh Abou - Kheir, Professor, Department of food Science, Faculty of Agriculture, Damascus University and Dr. Fawaz Azmeh, Professor, Faculty of Agriculture, Damascus University, Expert at the National Commission for Biotechnology and any reference to other research works has been duly acknowledged in the text and in references list.

Candidate	*supervisor*	*Co-supervisor*
Rahim Abu-Aljadael	*Dr. Saleh Abou - Kheir*	*Dr. Fawaz Azmeh*

تصريـــــــــــــح

أصرَّح بأنَّ العمل الموصوف في هذه الأطروحة تحت عنوان:

أمثلةُ إنتاج خميرةَ الخباز والإيتانولَ الحيوي من عصارة الذرة البيضاء السكرية

لـم يَسـبقْ أن قُـدَّم للحصـول علـى أيـة درجـة جامعيـة أُخـرى، وغيـر مُقـدّم حاليـاً لـذلك، وإنَّ كافـة الأعمـال والنتـائج المـذكورة هـي جهـودي الشخصـية، وبتوجيـه مـن المشـرفين العلميـين، وقـد نُسـبت أيَّـة معلومـات أو نتائج أُخرى ذُكرت في هذه الأطروحة إلى مصادرها ومؤلفيها في النص وقائمة المراجع.

المرشَّح

رحيم عبدالسلام أبو الجدايل

Declaration

I declare that the present research entitled:

"Optimization of Baker's Yeast and Bioethanol Production From Sugar Sorghum Juice"

Is an original research work that has not been presented or currently submitted for any other degree and all the efforts and results are resulted from individual work under supervision of the scientific supervisors and any information, methods or results mentioned in this study have been assigned to its recourses and researchers in the text and references list.

Candidate

Rahim Abu-Aljadael

قائمة الفهرس

الفقرة	مقدمة عامةGeneral Introduction	الصفحة
1	المقدمة Introduction	1
1-1-	مبررات البحث Research justification	4
1- 2-	أهداف البحث Objectives	5
2-	الدراسة المرجعية Literature Review	6
1-2	الذرة البيضاء السكرية Sugar Sorghum	7
2-2-	الخمائر Yeast	16
1-2-2-	تركيب خميرة الخباز Structure of Baker's yeast	20
1-1-2-2-	الجدار الخلوي Cell wall	20
2-1-2-2-	الغشاء السيتو بلاسمي Cell membrane	20
3-1-2-2-	الفجوات Vacuoles	21
4-1-2-2-	الميتوكوندريا Mitochondria	21
5 -1-2-2-	النواة The nucleus	21
2-2-2-	التكاثر ودورة الحياة Reproduction and life cycle	22
1-2-2-2-	التكاثر اللاجنسي بالبرعمة Budding	22
2-2-2-2-	التكاثر اللاجنسي بالانشطار أو الانقسام Diffusion	23
3-2-2-2-	دورة الحياة الجنسية Sexual life cycle	23
3-2-2-	العوامل المؤثرة في نشاط الخميرة Factors affect yeast activity	24
1-3-2-2-	تركيز السكر والضغط الأسموزي Sugar concentration	24
2 -3-2-2-	الحموضة Acidity	27
3-3-2-2-	الزمن Time	28
4-3-2-2-	التهوية Aeration	29
5-3-2-2-	تركيز الآزوت Nitrogen concentration	30
6-3-2-2-	الحرارة Temperature	31
7-3-2-2-	المركبات اللاعضوية Inorganic components	32
4-2-2-	بعض الركائز المستخدمة في إنتاج خميرة الخباز Substrates which are usually used in Baker's yeast production	33
5-2-2-	صناعة خميرة الخبز Yeast production	35
1-5-2-2-	تاريخ صناعة الخميرة History of yeast production	35
2-5-2-2-	مرحلة تهيئة المولاس لإنتاج الخميرة صناعياً Molasses preparation	39
3-5-2-2-	المرحلة المخبرية لإنتاج خميرة الخبز Laboratory stage	42
4-5-2-2-	مرحلة الإنتاج التجاري Commercial stage	43
3-2-	طاقة الكتلة الحيوية Biomass energy	45

2-3-1-	الدوافع المرتبطة بالتوجه لإنتاج الوقود الحيوي Motivations associated with biofuel production	46
2-3-1-1 -	أمن الطاقة في الحاضر والمستقبل.	47
2-3-1-2 -	مواجهة المشكلات البيئية والتغيرات المناخية.	48
2-3-1-3-	النهوض بالقطاع الزراعي وتنمية المجتمعات الريفية.	49
2-3-2-	الأجيال المتتابعة من الوقود الحيوي Generations of biofuel	49
2-3-3-	الوقود الحيوي والأمن الغذائي Biofuel and food security	53
2-3-4-	الوقود الحيوي وأسعار الغذاء Biofuel and food prices	54
2-3-5-	الوقود الحيوي والزراعة Biofuel and agriculture	56
2-3-6-	الوقود الحيوي والمجتمع Biofuel and society	57
2-3-7-	ديناميكية التخمر Dynamics of fermentation	58
3-	مواد وطرائق البحث Materials and Methods	60
3-1-	دراسة تركيب عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري Analyzing of Sugar Sorghum Juice and molasses components	61
3-2-	حلمهة الركيزة Hydrolysis	62
3-3-	تقدير السكريات الكلية Sugars estimation	62
3-4-	ضبط الحموضة وإضافة مانع الرغوة pH adjustment and addition of Anti Foam	63
3-5-	تعقيم الوسط Sterilization	63
3-6-	البادئ Starter	63
3-6-1-	لإنتاج خميرة الخباز.	63
3-6-2-	لإنتاج الإيتانول الحيوي.	64
3-6-3 -3	نسبة اللقاح Inoculum size	64
3-7-	المنحني القياسي لمحلول الغلوكوز Glucose standard curve	64
3-8-	اختبار الخلايا الميتة Dead cell Test	66
3-9-	تقدير عدد الوحدات المشكلة لمستعمرات (C.F.U)	66
3-10-	اختبارات ما بعد التخمير Post fermentation tests	66
3-11-	تصميم التجربة Experimental design	66
3-12-	تحضير خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري.	67
4-	النتائج والمناقشة Results and discussion	69
4-1-	تحليل مكونات عصارة الذرة البيضاء السكرية بالمقارنة مع المولاس.	70

4-2-	اختبار السلالة المستخدمة كبادئ Results of starter test	71
4-3-	تأثير سرعة الدوران في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود.	74
4-4-	تأثير حرارة التخمير في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود.	75
4-5-	تأثير حجم العصارة في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود.	77
4-6-	تأثير تركيز السكر الأولي في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود.	78
4-7-	تأثير رقم الحموضة الأولي في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود.	80
4-8-	تأثير إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود.	82
4-9-	تأثير زمن التخمير في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود.	84
4-10-	التأثير الخطي والتأثير المربع والتأثير التفاعلي للعوامل المدروسة في الكتلة الحيوية الجافة والمردود من الخميرة.	86
4-11-	تطبيق جميع الشروط المثلى المستنتجة في الدوارق، والمفاعل الحيوي المخبري.	89
4-12-	إكثار خميرة الخباز من خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري.	91
4-13-	التأثير الخطي والتأثير المربع والتأثير المتداخل للعوامل المدروسة في نسبة الإيتانول والمردود.	94
4-14-	تأثير العوامل المدروسة في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود	97
4-14-1-	تأثير تركيز السكر الأولي في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود.	97
4-14-2-	تأثير رقم الحموضة الأولي في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود.	99
4-14-3-	تأثير إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود.	100
4-14-4-	تأثير حجم اللقاح في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود.	101
4-15-	إنتاج الإيتانول من خلائط عصارة ساق الذرة السكرية مع مولاس الشوندر السكري.	103
4-15-1-	أمثلة تركيز السكر الأولي لإنتاج الإيتانول الحيوي من خليط عصارة ساق الذرة السكرية مع مولاس الشوندر السكري.	103
4-15-2-	نسب الإيتانول الناتجة من الخلائط المدروسة.	104
5-	الاستنتاجات Conclusions	105
6-	التوصيات والمقترحات Recommendations	108
	المراجع References	109
	الملحق Annexes	124

الجدول	قائمة الجداول	الصفحة
1	المقنن المائي للذرة البيضاء السكرية والذرة الصفراء وقصب السكر.	9
2	مقارنة بين الذرة البيضاء السكرية والذرة البيضاء الحبية من حيث الإنتاجية.	9
3	مقارنة بين الذرة البيضاء السكرية والشوندر السكري.	9
4	التركيب الكيميائي لعصير الذرة البيضاء السكرية الخام.	15
5	مقارنة بين الخواص الكيميائية لمولاس قصب السكر ومولاس الشوندر السكري.	34
6	الدوافع الأساسية لتنمية إنتاج الوقود الحيوي لدى أهم البلدان المنتجة له.	47
7	النسب المئوية للتخفيضات في الانبعاثات حسب نوع الوقود الحيوي.	49
8	قيم الامتصاصية لتراكيز الغلوكوز المستخدمة في رسم المنحني القياسي.	65
9	نسب خلط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري.	67
10	مقارنة الخواص الكيميائية لعصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري.	70
11	مقارنة قوة رفع العجين للسلالات المدروسة.	71
12	كمية الخميرة الجافة والسكر المستهلك والمردود بالنسبة لعصارة الذرة البيضاء السكرية.	72
13	كمية الخميرة الجافة والسكر المستهلك والمردود بالنسبة لمولاس الشوندر السكري.	73
14	مقارنة الكتلة الحيوية الناتجة عند تطبيق ثلاث سرعات دوران مختلفة.	74
15	مقارنة الكتلة الحيوية الناتجة عند تطبيق خمس درجات حرارة مختلفة.	75
16	مقارنة الكتلة الحيوية الناتجة من الخميرة عند استخدام ثلاث حجوم مختلفة من العصارة السكرية.	77
17	تأثير العوامل المدروسة في كمية الخميرة الناتجة من عصارة الذرة البيضاء السكرية.	87
18	تحليل التباين لكمية الخميرة الناتجة من عصارة الذرة البيضاء السكرية.	88
19	تأثير العوامل المدروسة في المردود من الخميرة الناتجة (وزن/ وزن)، من عصارة الذرة البيضاء السكرية.	89
20	الكتلة الحيوية للخميرة عند تطبيق الشروط المثلى المستحصل عليها في الدوارق.	90
21	الكتلة الحيوية للخميرة عند تطبيق الشروط المثلى المستحصل عليها في المخمر.	90
22	الكتلة الحيوية الناتجة من خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري، في الدوارق.	91
23	الكتلة الحيوية الناتجة من خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري، في المفاعل الحيوي المخبري.	92
24	نسب الإيتانول الناتجة وكمية السكر المستهلك والسكر النهائي والمردود.	95
25	تأثير العوامل المدروسة في نسبة الإيتانول الناتجة (a)، والمردود عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك (b)، (حجم/ وزن).	96
26	التأثير الخطي والمربع للعوامل المدروسة في نسبة الإيتانول.	97
27	مقارنة المردود من الإيتانول والخميرة عند استخدام ثلاث تراكيز من السكر الأولي.	103
28	نسب الخلط ونسب الإيتانول الناتجة من الخلائط المدروسة.	104

الشكل	قائمة الأشكال	الصفحة
1	الذرة البيضاء السكرية محصول متعدد الاستعمال.	10
2	مسار تفاعلات التحلل السكري.	26
3	آلية التخمر في الظروف اللاهوائية.	30
4	معالجة المولاس.	41
5	مسارات إنتاج الجيل الأول والثاني من الوقود الحيوي.	51
6	مخطط الإنتاج العالمي للايتانول الحيوي.	53
7	الآثار وردود الأفعال الرئيسية في نُظم الأغذية والزراعة والطاقة بعد ظهور الطلب على الوقود الحيوي.	59
8	المنحني القياسي لمحلول الغلوكوز.	65
9	مخطط العمل.	68
10	تأثير تركيز السكر الأولي في إنتاج الكتلة الحيوية (بالوزن الجاف، غ / ليتر)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).	79
11	تأثير تركيز السكر الأولي في المردود من الكتلة الحيوية (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).	79
12	تأثير الحموضة الأولي في إنتاج الكتلة الحيوية (بالوزن الجاف، غ/ ليتر)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).	81
13	تأثير رقم الحموضة الأولي في المردود من الكتلة الحيوية للخميرة (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).	81
14	تأثير تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم في إنتاج الكتلة الحيوية (بالوزن الجاف، غ/ ليتر)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).	83
15	تأثير تركيز فوسفات الأمونيوم في المردود من الكتلة الحيوية (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).	83
16	تأثير زمن التخمير في إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة (بالوزن الجاف، غ/ ليتر)، من الذرة السكرية (a)، والمولاس (b).	85
17	تأثير زمن التخمير في مردود الكتلة الحيوية (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة السكرية (a)، والمولاس (b).	85
18	تأثير تركيز السكر الأولي في نسبة الإيتانول (a)، والمردود (b).	98
19	تأثير رقم الحموضة الاولي في نسبة الإيتانول (a)، والمردود (b) .	100
20	تأثير تركيز فوسفات الأمونيوم في نسبة الإيتانول (a)، والمردود (b).	101
21	تأثير حجم اللقاح في نسبة الإيتانول (a)، والمردود (b).	102

فهرس المختصرات

الاختصار	المرادف الإنكليزي	المرادف العربي
ICUMSA	International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis	اللجنة الدولية للطرائق الموحدة لتحليل السكر
PDA	Potato Dextrose Agar Medium	وسط البطاطا والدكستروز الصلب
YPD	Yeast Peptone Dextrose Medium	بيئة مستخلص الخميرة والببتون والغلوكوز السائلة
YPDA	Yeast Peptone Dextrose Agar	بيئة مستخلص الخميرة والببتون والغلوكوز الصلب
FAO	Food and Agriculture Organization	منظمة الأغذية والزراعة العالمية
DNSA	Dinitrosalicylic Acid	داي نترو ساليسيلك أسيد
C.F.U	Colony Forming Unit	عدد المستعمرات المتشكلة
RSM	Response Surface Methodology	طريقة استجابة منهجية السطح
HPLC	Hi Performance Liquid Chromatography	جهاز الاستشراب عالي الأداء
LSD	Least Significant Difference	أقل فرق معنوي
WUE	Water Use Efficiency	كفاءة استعمال الماء
S.C.P	Single Cell Protein	البروتين وحيد الخلية
DNA	Deoxyribonucleic acid	الحمض النووي منقوص الأكسجين
RNA	Ribonucleic acid	الحمض النووي الريبي
NAD	Nicotinamide Adenine Dinucleotide	ثنائي نكليوتيد النيكوتيناميد والأدنين
MIT	Massachusetts Institute of Technology	معهد ماستيوس
R.P.M	Rotary Per Minute	دورة في الدقيقة

كلمة شكر وتقدير

أتقدم بالشكر الجزيل والتقدير والاحترام:

للأستاذ الدكتور صالح أبو الخير والأستاذ الدكتور فواز العظمة

لتفضلهما بالإشراف على البحث، ولما قدماه لي من الإرشادات والتوجيهات العلمية القيمة والنصائح السديدة.

كما أتقدم بخالص الشكر والامتنان **للأستاذ الدكتور عصام قاسم** المدير العام للهيئة العامة للتقانة الحيوية، والزملاء في مخابر الهيئة، لما قدموه من دعم متواصل للبحث.

والشكر الموصول **للدكتور جهاد سمعان**، في قسم علوم الأغذية، **والدكتورة نسرين نقشو**، في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، لما قدماه من دعم ومتابعة للبحث.

وأتوجه بالشكر الجزيل **لأعضاء لجنة الحكم الموقرة**، لتكرمهم بتحكيم وتقييم هذه الأطروحة وإغناؤها بالملاحظات القيِّمة.

ولا أنسى فضل **الأساتذة الأفاضل في قسم علوم الأغذية** مشاعل النور والعلم والمعرفة.

ومن لا أنساهم، أبي وأمي وأخوتي، ورفاق دربي.

رحيم أبو الجدايل

الملخص

هدفَ البحث إلى دراسة استثمار عصارة نبات الذرة البيضاء السكرية (Sugar Sorghum)، في إكثار خميرة الخباز (*Saccharomyces cerevisiae*) وإنتاج الإيتانول الحيوي، مع أمثلة شروط إنتاجهما بطريقة الدفعة الواحدة (Batch)، ودراسة إمكانية الاستعاضة عن إضافة مصادر آزوت خارجية لمولاس الشوندر السكري وذلك بتحضير خلائط من عصارة ساق الذرة السكرية مع مولاس الشوندر السكري.

دُرس تأثير سبعة عوامل وبثلاث مستويات لكل عامل في الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة، رقم الحموضة الأولي (pH= 4، 5، 6)، زمن التخمر (14، 28، 42 ساعة)، تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم (0، 0.5، 1%)، تركيز السكر الأولي (2.5، 5، 7.5 %)، ودرجة الحرارة (20، 30، 40°م)، سرعة دوران الهزازة الرحوية (200، 250 300 دورة/ دقيقة)، حجم العصارة (250، 500، 750 مل). بينت النتائج معنوية تأثير العوامل المدروسة ووجود تأثير تفاعلي معنوي ($p \leq 0.01$) بين هذه العوامل وأن الشروط المثلى للحصول على أعلى كتلة حيوية جافة للخميرة (6.9 غ / ليتر) من عصارة الذرة البيضاء هي: تركيز سكر أولي 5.3 %، ورقم الحموضة pH= 5، وزمن التخمر 28 ساعة وسرعة الدوران 250 دورة/ دقيقة ودرجة الحرارة 30° م، ونسبة العصارة للدورق المثالية 2:1، ودون الحاجة لإضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم، في حين كان تركيز السكر الأولي وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم الأمثل بالنسبة للمولاس هي: 5 % و0.5 % على التوالي، وأعطى عندها المولاس 3.47 غ/ ليتر من الخميرة الجافة، وبتطبيق الشروط المُستحصل عليها من تجارب الدوارق في المُفاعل الحيوي المخبري، ارتفع المردود من 15.97% إلى 23.68 % بزيادة قدرها 7.71 % (بالنسبة لعصارة الذرة السكرية) ومن 11.12% إلى 20.3 % بزيادة قدرها 9.18 % (بالنسبة لمولاس الشوندر)، ولإنتاج الإيتانول دُرس تأثير أربعة عوامل وبثلاث مستويات لكل عامل: تركيز سكر أولي (12، 15، 18%)، رقم الحموضة الأولي (pH= 4، 5، 6)،

وثلاث خلطات من فوسفات ثنائية الأمونيوم واليوريا، وحجم لقاحة (1، 3، 5 %)، وبينت النتائج تفوق عصارة الذرة البيضاء السكرية معنوياً على مولاس الشوندر السكري في إنتاج الإيتانول، وكانت الشروط المثلى للحصول على أعلى نسبة من الإيتانول 8.76 % (حجم / حجم) من عصارة الذرة هي: تركيز السكر 16 % ورقم الحموضة pH= 5 وحجم اللقاح 3 % وبعد 24 ساعة من التخمير، ودون الحاجة لإضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم أو اليوريا، وبالنسبة للخلطات المدروسة بيَّنت النتائج إمكانية الاستغناء عن إضافة اليوريا وفوسفات ثنائية الأمونيوم لتحسين خواص مولاس الشوندر السكري، وذلك بتحضير خليط من 50% عصارة الذرة السكرية و50 % مولاس الشوندر، حيث أعطت هذه الخلطة (C) 4.31 غ/ ليتر من الخميرة الجافة و7.9 % إيتانول بزيادة قدرها 0.96 غ/ ليتر عن المولاس عند إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.5 % لإنتاج الخميرة، وبزيادة قدرها 0.7 % عند إضافة اليوريا بنسبة 0.12 % والفوسفات ثنائية الأمونيوم 0.34 % لإنتاج الإيتانول، وازدادت كمية الخميرة ونسبة الإيتانول مع ازدياد نسبة عصارة الذرة في الخلائط، حيث أعطت الخلطة التي احتوت 100% عصارة الذرة البيضاء السكرية أعلى كمية من الخميرة 5.9 غ/ ليتر وبمردود 23.68 % (في المفاعل الحيوي)، وأعلى نسبة من الإيتانول 8.9 % (حجم/ حجم) وبمردود 63.57 % (حجم/ وزن)، أكدت الدراسة على الأهمية التطبيقية لعصارة ساق الذرة البيضاء السكرية كركيزة في إنتاج خميرة الخباز *S. cereviseae* ذات الأهمية الإقتصادية والصناعية والغذائية وكمصدر لإنتاج الإيتانول الحيوي كطاقة نظيفة في المستقبل، وكمدعم لتحسين إنتاجية المولاس، مما يدعو إلى إدخاله في الخطة الزراعية، كنبات واعد، صديق للبيئة متحمل لظروف الجفاف، ومتعدد الاستعمال.

Abstract

This research aimed to optimize Baker's yeast (*Sacharomyces cerevisiae*) and bioethanol production from sugar sorghum stalk juice in batch fermentation method and studying the possibility of increasing the yield by preparing mixtures of sugar beet molasses and sugar sorghum juice instead of adding nutritional salts. For yeast production the effect of seven factors were studied and each factor were studied at three levels: pH (4, 5, 6), fermentation time (14, 28, 42 h), initial total sugar concentration (2.5, 5, 7.5 %), incubator agitation rate (200, 250, 300 R.P.M), Di ammonium phosphate concentration (0, 0.5, 1 %), Juice volume (250, 500, 750 mL) and temperature (20, 25, 30, 35, 40 C°). Results revealed significance effect of all studied parameters and significant coefficient ($p \leq 0.01$) between parameters on yeast production. Sugar sorghum stalk juice gave 6.9 g/L of dry yeast biomass when studied parameters were adjusted at the optimum levels: pH= 5, sugar concentration: 5.3 %, fermentation time: 28 h, temperature: 30 C°, agitation rate: 250 R.P.M, medium to flask volume: 1: 2 and without addition of di ammonium phosphate, whereas beet molasses gave the highest biomass 3.47 g/L when sugar concentration were adjusted at 5 % and by adding 0.5 % of di ammonium phosphate. The best concluded conditions of parameters which were obtained from flasks were applied on the fermenter and results revealed increasing in the biomass yield, since it increased from 15.97 % to 23.68 % for sugar sorghum juice and from 11.12 % to 20.3 % for sugar beet molasses, and from 15 % to 20 % for the mixture which contained 75 % sugar sorghum juice and 25 % beet molasses. For ethanol production, the effect of four factors on ethanol production were studied and each was conducted at three levels: pH (4, 5, 6) sugar concentration (12, 15, 18 %), urea and di ammonium phosphate mixtures (0.12 U + 0.34 P, 0.24 U + 0.68 P, 0 %), inoculation volume (1, 3, 5 %). Statistical results showed significance effect of studied parameters and

significance interaction ($p \leq 0.01$) between pH and the concentrations of urea and di ammonium phosphate on ethanol yield. Sugar sorghum juice gave the highest percentage of ethanol 8.76 % (v/v) with yield of 63.2 % (v/w) when studied parameters were adjusted at pH 5, sugar concentration: 16 %, inoculation volume: 3 % and fermentation time: 24 h, without addition of urea or di ammonium phosphate. Five mixtures (A, B, C, D, E) of beet molasses and sugar sorghum stalk juice which contained 0, 25, 50, 75, 100 % of sugar sorghum stalk juice, respectively were prepared and fermented. Results showed that mixture (C) which contained 50 % sugar beet molasses and 50 % sugar sorghum juice gave higher biomass and bioethanol 4.31 g/L, 7.9 % (in the fermenter) respectively, compared with 3.35 g/L and 7.2 % from beet molasses when supplemented with urea and di ammonium phosphate. And results also revealed increasing in the yield of biomass and bioethanol by increasing the proportion of sugar sorghum juice in the mixture, since the fifth mixture (E), which contained 100 % sugar sorghum juice gave the highest biomass and bioethanol 5.9 g/L (in the fermenter) and 8.9 % (v/v) respectively, whereas the mixture (A) which contained 100 % of beet molasses gave the lowest biomass and bioethanol 2.32 g/L (in the fermenter) and 6.8 % (v/v), respectively. This research emphasizes the importance of sugar sorghum stalk juice as an alternative substrate for production of baker's yeast which has economical, artificial and feed values and to produce bioethanol as a clean, eco-friendly and sustainable source of energy in the future, in addition to reveal the agricultural, economic and environmental advantages of this crop.

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

1- المقدمة Introduction:

تُعد الأحياء الدقيقة من المفاتيح الأساسية في التقانات الحيوية، حيث تلعب دوراً حاسماً في مختلف مجالات حياتنا ونشاطاتنا، من خلال احتوائها على مجموعات ذات أهمية كبيرة في قطاعات الصناعات الغذائية والكيميائية والتقانات الحيوية الصناعية وإنتاج الطاقة الحيوية الصديقة للبيئة، ومن بين تلك الأحياء تساهم الخمائر اسهاماً فعّالاً في مختلف هذه القطاعات، وذلك لاستخدامها في صناعة الخبيز، وإنتاج الكحول الطبي، والوقود الحيوي، والمشروبات الكحولية، وإنتاج الأحماض العضوية، والفيتامينات، والإنزيمات وإنتاج البروتين وحيد الخلية الصيدلاني SCP (Single Cell Protein)، وتُعد خميرة الخباز *Sacharomyces cerevisiae* من أهم أنواع الخمائر، كونها تسلك نمطين من الحياة، حياة هوائية تستهلك خلالها المواد السكرية والأملاح المعدنية الموجودة في الوسط لكي تنمو وتتكاثر لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة، وحياة لا هوائية تخمر خلالها المواد السكرية وتحولها بفضل الجهاز الإنزيمي الذي تملكه إلى كحول إيتيلي (الإيتانول الحيوي) و CO_2 مع تحرير الطاقة اللازمة لابقائها على قيد الحياة.

عَرف الإنسان منذ القدم، الفراعنة، أهمية ودور الخميرة، حيث اكتشف أن ترك العجين فترة من الزمن في ظروف مناسبة من الحرارة يتحول إلى كتلة اسفنجية القوام تنتفخ عند تعرضها للحرارة، ولكن يعود تاريخ صناعة الخميرة الطرية واستخدامها لأول مرة في صناعة الخبز إلى معامل المشروبات الكحولية، حيث كانت الخميرة عبارة عن منتج ثانوي (رواسب) في المخمر الكحولي، ونظراً لزيادة الحاجة إلى استهلاك الخميرة طُورت تقنيات وأساليب صناعتها وإنشاء مصانع لإنتاجها، وأصبحت مستقلة عن معامل الكحول ومنتجها الرئيسي هو الخميرة، وكانت الحبوب هي المواد الأولية لهذه الصناعة وبنسبة 70% من الذرة.

تشكل الطاقة الحيوية المستمدة من المواد العضوية، بتحويل الكتلة الحيوية للنباتات أو الحيوانات أو أجزائها أو مخلفاتها أو الكائنات الدقيقة إلى إيتانول حيوي أو زيت ديزل أو غاز حيوي، أحد أهم المصادر المتجددة والنظيفة للطاقة، واتخذت العديد من البلدان إجراءات متتابعة في اتجاه إيجاد مصادر

متجددة للطاقة تحسباً للنضوب المتوقع للنفط ولغيره من الدوافع الاقتصادية والبيئية، وتُعتبر تقانةُ إكثار خميرةَ الخباز وإنتاجُ الإيتانول الحيوي من مخلفات الحاصلات الزراعية أحد الأساليب المتقدمة تكنولوجياً للاستفادة من المخلفات العضوية الناتجة عن الصناعة ومخلفات الحاصلات الزراعية في إنتاج المواد الأولية اللازمة لصناعة الخبز وللحصول على مصادر طاقة بديلة وصديقة للبيئة، حيث أصبحت الصناعات الميكروبيولوجية هي الحل الأمثل لمعالجة هذه المخلفات للحفاظ على البيئة وإنتاج الطاقة الحيوية دون وقوع التضارب بين استعمال المحاصيل الزراعية كغذاء للإنسان واستعمالها في إنتاج الوقود الحيوي، ويحتل الإيتانول الحيوي الاهتمام الأكبر من بين أنواع الوقود الحيوي، لإمكانية استخدامه في النقل ولخفضه التكاليف الناجمة عن ارتفاع أسعار الوقود الأحفوري التقليدي (البنزين والديزل).

1-1- مبررات البحث Research Justifications:

تَعتمدُ صناعة الخميرة في سورية على مولاس الشوندر السكري فقط، منتج ثانوي من صناعة السكر، ولكن ظاهرة الاحتباس الحراري فرضت واقعاً مناخياً جديداً أدى إلى شح الأمطار وقلة مصادر المياه اللازمة لري هذه المحاصيل الاستراتيجية، مما أدى إلى انخفاض إنتاج الشوندر السكري بسبب خروج مساحات كبيرة من المناطق الزراعية المخصصة لزراعته، نظراً لاحتياجه الكبير للماء إضافةً إلى أنه من المحاصيل المجهدة ويتطلب العديد من عمليات الخدمة، مما جعل من الأهمية والضرورة البحث عن نبات سكري رديف يتحمل ظروف الجفاف ويمكن زراعته في أكثر من عروة ليوفر المادة الأولية للصناعة على مدار العام، وليتم استخدام عصارته السكرية كركيزة لإكثار الأحياء الدقيقة ذات الأهمية الاقتصادية والصناعية والغذائية كخميرة الخباز الضرورية لإنتاج رغيف الخبز، وكمصدر لإنتاج الطاقة الحيوية النظيفة لتقليل الآثار المناخية السيئة للانبعاثات السامة من الوقود الأحفوري على البيئة والمناخ، كتلوث الهواء والمطر الحامضي وارتفاع درجة حرارة الأرض، ولسد الحاجة الملحِّة والمتزايدة من الطلب على الوقود، ودون وقوع التضارب بين استعمال هذا المحصول كغذاء للإنسان واستعماله في إنتاج الوقود الحيوي، ويمكن أن تشكِّل الذرة البيضاء السكرية، نظراً لما تتميز به من صفات هامة وفريدة، أحد أهم المحاصيل الواعدة لإكثار خميرة الخباز وإنتاج الإيتانول الحيوي.

1- 2- أهداف البحث Research Objectives :

1- دراسة استثمار عصارة ساق نبات الذرة البيضاء السكرية (Sugar Sorghum)، كركيزة لإنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز (*Saccharomyces cerevisiae*) والإيتانول الحيوي Bioethanol.

2- أمثلة ظروف إكثار خميرة الخباز وإنتاج الإيتانول الحيوي من عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية، بطريقة الدفعة الواحدة (Batch)، مع استخدام مولاس الشوندر السكري كشاهد للمقارنة وذلك بدراسة تأثير:

1- تركيز السكر الأولي.	5- إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم واليوريا.
2- رقم الحموضة الأولي.	6- حجم اللقاح.
3- درجة الحرارة.	7- حجم الركيزة في الدورق.
4- سرعة الدوران.	8- زمن التخمير.

3- إكثار خميرة الخباز وإنتاج الإيتانول الحيوي، من خلائط عصارة الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

Literature Review

2- الدراسة المرجعية Literature Review:

2-1- الذرة البيضاء السكرية:

تنتمي الذرة البيضاء السكرية [*Sorghum bicolor* (L.) *Moench*] للمحاصيل الحولية الصيفية التي تتبع رتبة Poales، والعائلة النجيلية Poaceae، والجنس *Sorghum*، والنوع *bicolor* (Bryan, 1990)، وتُعد القارة الإفريقية الموطن الأصلي لهذا النبات إلا أن زراعته تمتد على نطاق واسع من المناطق المتباينة في ظروفها البيئية (Vavilov, 1951; Mann *et al*., 1983)، وذلك بدءاً من المناطق الساحلية إلى المناطق الحارة والجافة وصولاً للمناطق المرتفعة، نظراً لقدرته العالية على التأقلم وتحمله لنقص المياه والظروف المناخية المتغيرة (Doggett, 1988) .

يُقسم نبات الذرة البيضاء حسب طبيعة السوق النباتية إلى نوع جاف، يحتوي على نسبة ضئيلة من العصير السكري في الساق ويُزرع بشكل رئيسي لإنتاج الحبوب حيث يحتل الترتيب الخامس من حيث الإنتاجية الحبية بعد القمح والرز والذرة الصفراء والشعير (ICRISAT and FAO, 1996)، أما النوع الثاني هو الذرة البيضاء السكرية Sugar sorghum ويتميز بالعديد من الصفات الهامة والفريدة مثل الكفاءة العالية في الاستقلاب لإنتاج كميات كبيرة من الكتلة الحيوية، حيث أعطت العديدُ من الأصناف متوسط كتلة حيوية في مرحلة النضج تراوحت ما بين 24-120 طن/هكتار، حيث يُعد نبات الذرة البيضاء السكرية من النباتات رباعية الكربون C_4 التي طوَّرت آلية تشريحية وكيمياحيوية لتقليل فقد الكربون والطاقة عن طريق التنفس الضوئي، حيث يستهلك 34-55% من منتجات التركيب الضوئي في التنفس الضوئي (Dajue and Fusun, 1992)، وذلك بزيادة كفاءة التقاط وتسليم غاز ثنائي أكسيد الكربون الجوي لإنزيم Rubisco في خلايا الحزم الوعائية الداخلية، والذي يُفعَّل إلى أقصى طاقاته التمثيلية ويحوِّل الكربون الممتص إلى حمض عضوي رباعي الكربون قادر على إعادة توليد ثنائي أكسيد الكربون في كلوروبلاست خلايا غمد الأوعية، مما يجعلها أكثر كفاءة بـ 3 أو 4 مرات من النباتات ثلاثية الكربونC_3

في تثبيت الكربون واصطناع الكتلة الحيوية للنبات (Edwards and Walker, 1983)، ويمتلك هذا النبات نقطة تشبع مرتفعة من تركيز CO_2 مقارنة مع نباتات C_3 وقدرة هائلة على امتصاص تراكيز عالية من غاز CO_2 من الجو خلال 4-5 أشهر وهذا يفوق ثلاث مرات النباتات الأخرى أي ما يعادل 45 طن من CO_2/ الهكتار / دورة الحياة (Grassi, 2001)، وأثبتت الدراسات بأن هناك تحسناً ملحوظاً في عملية التمثيل الضوئي وزيادة في نمو نباتات الذرة البيضاء السكرية النامية في ظروف ارتفاع تركيز غاز CO_2 الجوي (Ottman *et al*., 2001; Wall *et al*., 2001)، ويتميز أيضاً بصفات شكلية وفيزيولوجية تجعله من أكثر المحاصيل الحقلية تحملاً للإجهاد المائي، فالمجموع الجذري يعادل ضعف الموجود في نبات الذرة الصفراء، وتغطى الأوراق بطبقة شمعية تعمل على تقليل التحميل الحراري من خلال عكس أشعة الشمس على سطح الأوراق (Grassi, 2001)، وكفاءته العالية في استخدام الماء 310 كغ ماء/ كغ كتلة حيوية وبالتالي احتياج مائي قليل نسبياً (4000 م^3/ هكتار خلال موسم النمو) بالمقارنة مع الشوندر السكري (12000 م^3/ هكتار)، وكذلك ثلث الاحتياج المائي لقصب السكر، مما يجعله متميزاً في التأقلم وتحمل الجفاف، وعندما يوصف النبات بأنه متحمل للجفاف فهذا لا يعني فقط قدرته على البقاء في ظل ظروف الجفاف، وإنما قدرته على النمو وإعطاء غلة جيدة تحت ظروف الإجهاد (Dayakar *et al*., 2004) الجدول (1) و(2)، ويمتلك كل جزء من النبات قيمة اقتصادية وحيوية هامة الشكل (1)، وتتميز السوق الخضرية بغناها بالعصارة السكرية (30000 لتر/هكتار) ذات السكريات القابلة للتخمر، سكروز وغلوكوز وفركتوز (Reddy, 2005)، بالإضافة إلى قصر فترة نمو المحصول 3-4 شهور مقارنةً بالشوندر السكري 5-6 شهور مع إمكانية زراعته في أكثر من عروة في السنة الواحدة الجدول(3)، وانخفاض تكاليف زراعته ونجاحه في معظم أنواع ترب المناطق التي تنجح فيها زراعته (Almodares and Hadi, 2009).

الجدول (1): المقنن المائي للذرة البيضاء السكرية والذرة الصفراء وقصب السكر.

المحصول	**كفاءة استخدام الماء (WUE)، كغ ماء/ كغ مادة جافة.**
الذرة البيضاء السكرية، (Lima, 1998) .	310
الذرة الصفراء، (Chapman and Carter, 1976).	370
قصب السكر، (Thompson, 1976).	400

الجدول (2): مقارنة بين الذرة البيضاء السكرية والذرة البيضاء الحبية من حيث الإنتاجية.

الغلة	**الذرة البيضاء السكرية**	**الذرة البيضاء الحبية**
الحبية،طن/ هكتار	1	3
السوق السكرية،طن/ هكتار	40	10

المصدر: (Reddi, 2006).

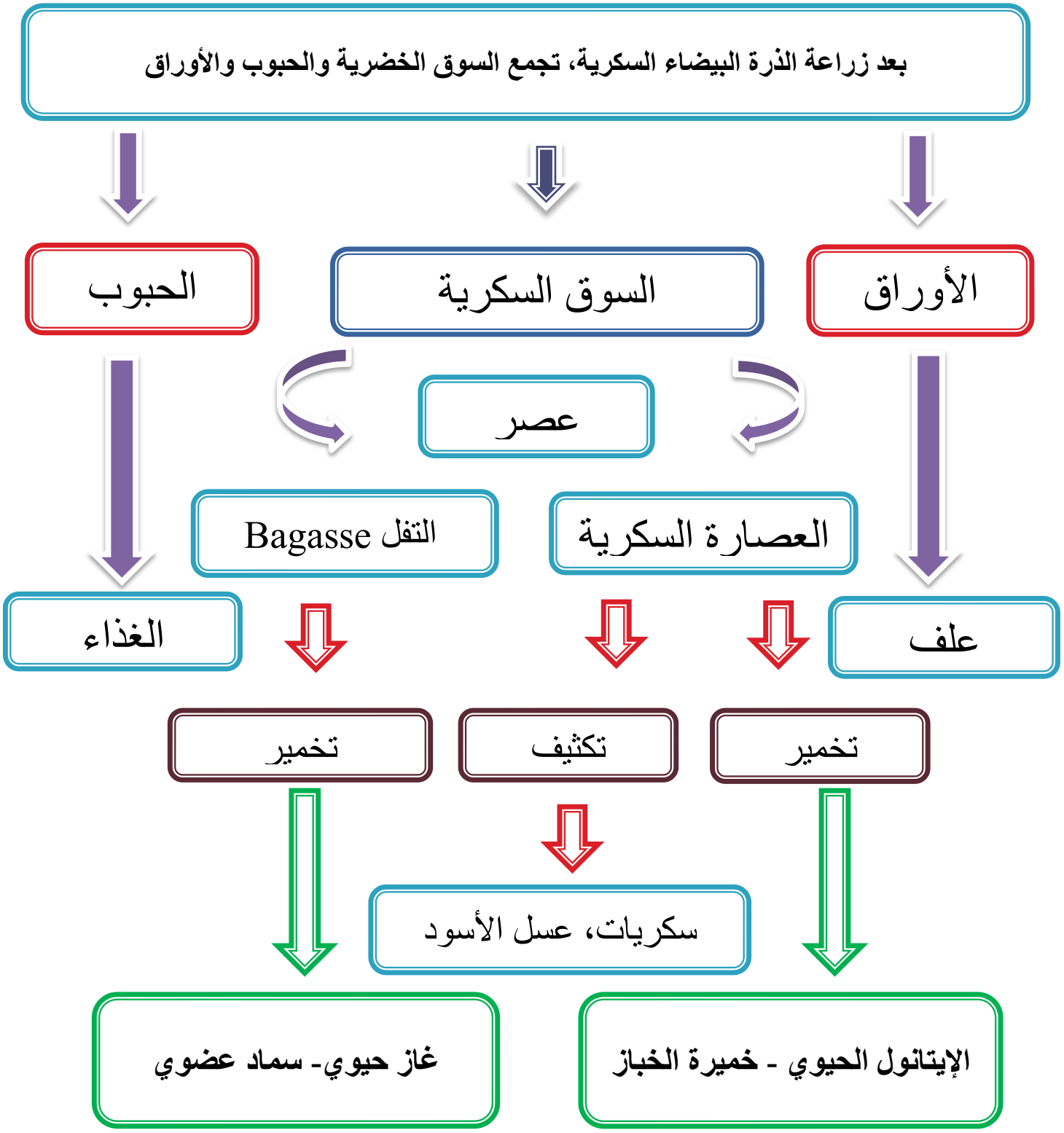
الجدول (3): مقارنة بين الذرة البيضاء السكرية والشوندر السكري*.

	الشوندر السكري	**الذرة البيضاء السكرية**
البريكس	% 24 - 17	% 23 -14
الإنتاجية طن/ هكتار	71.31 (متوسط إنتاجية سوريا من جذور الشوندر السكري لعام 2011)	74.53 (متوسط إنتاجية الصنف المدروس ICSSH30، في ظروف الإجهاد)
المتطلبات المائية/ الموسم	12000 م3/ هكتار	4000 م3/ هكتار
الفترة حتى النضج، باليوم	240 −160	100 – 120
pH التربة المناسبة	pH = 7.5 - 6.5	pH = 8.5 - 4.5
درجات الحرارة الملائمة	8 – 30° م	8 - 50°م
الضوء	حساس للإضاءة (الشمرخة – تلف الجذر)	قليل الحساسية (C_4)

المصدر: (بيانات المجموعة الإحصائية الزراعية لعام 2011) و (الحاج تركي وآخرون، 2010).

* تختلف هذه المعطيات باختلاف الصنف المزروع والمنطقة والعروة وظروف الزراعة.

يمتلك كل جزء من محصول الذرة البيضاء السكرية قيمة اقتصادية وحيوية هامة:



شكل (1): الذرة البيضاء السكرية محصول متعدد الاستعمال.

تُشكل الساق السكرية أهم الأجزاء الإقتصادية للنبات، وإن الإنتاج من السوق السكرية من الصفات التي تتباين بين أصناف الذرة البيضاء السكرية وتعزى هذه الاختلافات إلى عوامل وراثية متفاعلة مع الظروف البيئية. أشارت عديد من الدراسات إلى أن الإنتاج العالي من السوق السكرية للأصناف ارتبط بكل من طول وسماكة السوق السكرية (El-Shafai *et al*., 2005)، وكذلك وجد Mokadem وآخرون(1999) عند دراسة 13 صنفاً من الذرة البيضاء السكرية أن الصنف المتفوق على باقي الأصناف في الإنتاج من السوق السكرية تفوق في صفتي طول وقطر السوق السكرية. ذكر Schaffert و Borgonovi (1980) أن متوسط الإنتاج الكلي من السوق السكرية للأصناف المزروعة من الذرة البيضاء السكرية تراوحت بين 45 - 60 طن/ هكتار، وأشارا إلى أن الإنتاج الكلي من السوق السكرية تجاوزت 80 طن/ هكتار خلال 130-140يوم، وفي دراسة أجراها Almodares وآخرون (1997) على أصناف من الذرة البيضاء السكرية في إيران، تراوحت الغلة من السوق السكرية بين 24-120 طن/ هكتار، حيث أعطت الأصناف التالية Vespa، MN1500، M81-E، Sofrah، SSV-108، Theis، Wary، Foralco إنتاجية من السوق العصيرية 84.53، 83.71، 103.57، 85.57، 62.85، 100.14، 126.42، 97.71، طن/ هكتار على التوالي، ودرس Bapat وآخرون (1987) 87 صنفاً من الذرة البيضاء السكرية، وسجَّل الصنف SSV 2525 أعلى غلة من السوق السكرية (57.9 طن/ هكتار) تبعه كل من SSV-74 و SSV-7073 (52.5 و 51.7 طن/ هكتار، على التوالي)، أما الصنف SSV-108 أعطى غلة حبية 4.1 طن/ هكتار وإنتاج من السوق السكرية 41.1 طن/ هكتار، ما يُوضح أهميته كصنف ثنائي الغرض. بيَّن Mallikarjun وآخرون (1997) تفوق الصنف Rio على باقي الأصناف المدروسة بالإنتاج من السوق السكرية (39.99 طن/ هكتار) ودرجة بريكس 17.64 %، وسجَّل Broadhead (1969) تراجعاً في الإنتاج من السوق السكرية والعصير المستخرج من الصنف Rio عند التأخر في الزراعة من حزيران إلى آب، مع تحسن مؤشرات أخرى مثل درجة البريكس ونقاوة العصير، وسُجل أعلى إنتاج من السوق

السكرية (52 طن/ هكتار) عند الزراعة بشهر أيار مقارنة مع الزراعة بشهر تموز (35 طن/ هكتار). تتكون السكريات الرئيسية في العصارة السكرية من السكروز والغلوكوز والفركتوز، ويختلف تركيب العصارة باختلاف الصنف، وتُعد درجة البريكس مؤشراً لنوعية العصارة، ويُشكل الإنتاج من السوق السكرية والمحتوى من السكريات أهم العوامل المؤثرة في نسبة الإيتانول المنتجة (Saballos, 2008). سجَّل عديد من الباحثين وجود تباينات كبيرة بين أصناف الذرة البيضاء السكرية فيما يخص الإنتاج من الإيتانول الحيوي Bioethanol، حيث تراوح ما بين 2129-5696 لتر/ هكتار عند دراسة أصناف مختلفة من الذرة السكرية (Smith and Bauxton., 1993)، وسجَّل Mc Bee وآخرون (1988) أعلى إنتاج من الإيتانول الحيوي 7471 لتر/ هكتار من الصنف Rio وأقل إنتاج 3418 لتر/ هكتار من الصنف NSA-440، وفي دراسة أجراها Putnam وآخرون (1991) أعطى الصنف Keller أعلى مردود من الإيتانول الحيوي 4846 لتر/ هكتار. وجد Reddi (2006) أن المردود من الإيتانول الحيوي ارتبط بشكل موجب ومعنوي مع الكتلة الحيوية الخضراء (r = 0.826)، وذكر Choudhari وآخرون (1987) و Channappagoudar وآخرون (2007) أن درجة البريكس تشكل مؤشراً يُعبر عن محتوى السكروز في عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ويزداد من مرحلة الإزهار إلى مرحلة الحصاد بنسبة تصل إلى 19.6%، وأكد Jadhav وآخرون (1994) وجود علاقة ارتباط معنوية موجبة بين درجة البريكس ومحتوى العصارة من السكر، وسُجلت أعلى درجة بريكس في مرحلة النضج العجيني للحبوب (Rao *et al*., 1971; Reddi, 2006)، وبيَّن Choudhari (1988) و Reddy وآخرون (2007) وجود تباين واسع بين أصناف الذرة البيضاء السكرية فيما يخص درجة البريكس والإنتاج من السكر. كما وجد Smith وآخرون (1987) أن درجة البريكس تراوحت بين 10.5 % و20.7 %، كما بيَّن Bapat وآخرون (1987) أن درجة البريكس كانت أعلى ما يمكن في مرحلة النضج العجيني للبذور مع الاحتفاظ بنسبة استخراج عالية من العصير السكري، وأن درجة البريكس تراوحت ما بين 21 - 23.9 %.

ذكر Blum وآخرون (1975) أن تركيب العصير السكري المستخرج من تلك الأصناف أعطى درجة بريكس 20.7 % وأن نوعية العصير السكري تدهورت مع التأخر في الحصاد وصولاً لمرحلة النضج الفيزيولوجي. أجرى Ferreira وآخرون (1982) تجربة حقلية على 16 صنف مزروع من الذرة البيضاء السكرية ولاحظ أن درجة البريكس تراوحت ما بين 5.1 % و13.5 % في مرحلة النضج الفيزيولوجي للحبوب. يُعد إجهاد الجفاف من أكثر العوامل البيئية المؤثرة في الإنتاجية وذلك من خلال تأثيره على الصفات الشكلية والفيزيولوجية والمراحل الفينولوجية المهمة والمرتبطة بالإنتاج. أظهرت عديد من الدراسات أن بعض أصناف الذرة البيضاء السكرية تمتلك القدرة على التأقلم الواسع ضمن بيئات الزراعة، وتحمل الجفاف مع تغيرات طفيفة في الصفات الشكلية المرتبطة بالإنتاج، وقدرة عالية في الحفاظ على مسطح ورقي فعال تحت إجهاد الجفاف (Blum, 1979).

لاحظ Broadhead (1969) انخفاضاً في نسبة استخراج العصير السكري من السوق السكرية من الصنف Rio وارتفاعاً في درجة البريكس عند مرحلة النضج الفيزيولوجي، ولاحظ ارتفاع معنوي في تركيز السكروز في النسج النباتية عند تعريضها لظروف الإجهاد المائي في الأصناف المتحملة للجفاف، وعزى ذلك للتعديل الحلولي وانخفاض المحتوى الرطوبي في السوق (Newton *et al*., 1986)، وسجَّلت عديد من الأبحاث أن محتوى السكريات الذائبة كان أعلى في أصناف الذرة السكرية المُجهدة بالمقارنة مع غير المُجهدة (Maiti and Ross, 1990) ومتباينة فيما بينها، وبناء عليه أُقترح اعتماد درجة البريكس كمؤشر انتخابي لتحمل الجفاف (Yadav *et al*., 1991)، ولاحظ Makanda وآخرون (2009) وجود علاقة ارتباط معنوية وموجبة بين موعد الإزهار ودرجة البريكس. يمتلك نبات الذرة البيضاء السكرية القدرة على تخزين ما بين 11-25 % من السكروز في عصير الساق النباتية (Ritter *et al*., 2008)، وبيَّن Choudhari (1988) وجود تباين بين أصناف الذرة السكرية من حيث نسبة العصير السكري.

سجَّل Saballos (2008) أن كل من طول وقطر السوق السكرية ومحتواها الرطوبي فيها يلعب دوراً رئيسياً في مستوى عصيرية السوق النباتية، وسجَّل Parvatikar وآخرون (1991) أعلى مردود من العصير السكري (12.74 طن/ هكتار) للصنف SSV-119، في حين أعطى الصنف SSV-12611 أعلى نسبة استخراج للعصي من السوق النباتية(50.3 %) وأعلى درجة بريكس (16.5 %) وأعلى غلة من السكر (5.08 طن/ هكتار)، وسجَّل Ganesh وآخرون (1995) أعلى متوسط من غلة العصير السكري (22300 لتر/ هكتار) من الصنف SSV-74×AKSS-5 وأعلى درجة بريكس 21.83 % من الصنف HES-4 X SSV-84. لاحظ Saheb وآخرون (1997) أن هناك علاقة ارتباط موجبة مابين إنتاج السوق النباتية والعصير السكري، وكذلك لاحظ Audilakshmi وآخرون (2010) وجود علاقة ارتباط موجبة ومعنوية بين الإنتاج من العصير السكري مع كل من الطول والقطر والإنتاج من السوق السكرية. أشار Seesharam وآخرون (1987) أن الغلة الكلية من السكر ارتبطت بشكل موجب ومعنوي مع الغلة من العصير السكري ($r = 0.94$) ، ولاحظ Blum وآخرون (1977) أن ثلاثة أصناف من أصل 29 صنف من الذرة البيضاء السكرية سجَّلت 13.2 % من السكروز وأعلى غلة من السكر، حيث أنتجت هذه الأصناف مابين 3.5- 5 طن/ هكتار من السكر وذلك بعد إعطائها ريَّة تكميلية واحدة فقط. وفي دراسة أجراها Smith وآخرون (1987) لاحظوا وجود تباينات بين 6 أصناف من الذرة البيضاء السكرية فيما بينها من حيث إنتاجيةها من السكر والتي ما بين 7.8 - 17.2 طن/هكتار، دون وجود اختلاف بين هذه الأصناف من حيث نوعية السكريات وشكل السكروز نسبة 70% من السكريات ثم سكري الغلوكوز والفركتوز بنسب متساوية.

أكد Mutepe (2012) و Soltani وAlmodares (1994) أن التركيب الكيميائي للعصارة السكرية (كمية ونوعية السكريات، المواد الآزوتية والآزوت القابل للتمثيل) يتأثر بالعوامل المناخية والصنف المزروع ومواعيد حصاد السوق، حيث يشكل السكروز والسكريات المنقلبة، الفركتوز والغلوكوز، غالبية

السكريات في عصارة السوق النباتية بالإضافة إلى المالتوز. اقترح Anglani (1998) تصنيف أنواع الذرة البيضاء السكرية اعتماداً على نسبة ونوعية السكريات الذائبة في عصارة السوق إلى نوعين Saccharin- type و Syrup type، ويتميز النوع الأول بارتفاع نسبة السكروز ويتميز النوع الثاني بارتفاع نسبة السكريات المنقلبة الأحادية، وذكر Laopaiboon وآخرون (2009) التركيب الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية الخام من حيث محتواها من السكريات والمعادن ومصادر الآزوت والتي تُعتبر ضرورية لنمو ونشاط الخميرة كما هو موضح في الجدول التالي (رقم 4):

الجدول (4): التركيب الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية حسب Laopaiboon وآخرون (2009).

رقم الحموضة (pH)	4.9	السكريات الكلية، غ/ ليتر	173.02
العناصر المعدنية، مغ/ كغ			
الفوسفور	20	الكالسيوم	166
البوتاسيوم	1790	الصوديوم	170
الأمونيوم	21.4	الحديد	2
النترات	4.4	المنغنيز	3

يُبيِّن الجدول (4) محتوى عصارة الذرة البيضاء السكرية الخام من السكريات الكلية والآزوت والمعادن والعناصر الرئيسية والتي تُعتبر ضرورية للخميرة أثناء النمو والتخمير، مثل الأمونيوم والنترات والفوسفور والبوتاسيوم والكالسيوم والحديد والمنغنيز، حسب Laopaiboon وآخرون (2009).

درست الحاج تركي وآخرون (2012)، القرابة الوراثية بين تسعة أصناف من الذرة البيضاء السكرية المدخلة من الهند ICSSH 30، ICSSH31، ICSSH 25، ICSB 38، ICSB 675، ICSB 479، ICSB 474، ICSB 324، ICSV 25280 وصنف رزينية، وحددت أهم الصفات الظاهرية المرتبطة بصفة الغلة من السكر (موعد الإزهار، عدد الأوراق، طول الساق، قطر الساق السكرية، مساحة الأوراق، المحتوى الرطوبي النسبي، الكتلة الحيوية الخضراء عند النضج، الغلة من السوق السكرية، الغلة من

العصير السكري) تحت ظرفي وفرة المياه وإجهاد ما قبل الإزهار، وبيَّنت نتائج تحليل التباين التجميعي وجود فروقات معنوية على مستوى 5 % بين جميع الأصناف المدروسة للصفات المدروسة، كما كان هناك تفاعل معنوي بين البيئة والأصناف، وقد أشارت قيم المتوسطات البيئية إلى تفوق الصنف ICSSH30 في كلا ظرفي الزراعة بالمقارنة مع باقي الأصناف في جميع الصفات الظاهرية المدروسة، كما أظهرت نتائج الدراسة تباين في درجة البريكس بين الأصناف المدروسة تحت ظرف الزراعة المروية ولوحظ ارتفاع معنوي في درجة البريكس تحت ظروف الإجهاد وبشكل متباين بين جميع الأصناف المدروسة ما عدا الصنف ICSSH30 الذي لم يبد أي تغير ملحوظ بين ظرفي الزراعة وتتفق هذه النتيجة مع دراسات أخرى أشارت إلى ارتفاع في محتوى السكريات الذائبة في سوق أصناف الذرة البيضاء السكرية المجهدة مقارنة مع غير المجهدة ومتباينة فيما بينها، حيث وجد Geng وآخرون (1989) و Maiti وRoss (1990) ازدياداً ملحوظاً في تركيز السكر في السوق النباتية 29 % بعد تعرضها لظروف الجفاف، وعُزيت هذه النسبة العالية من السكر، والتي لوحظت في سوق أصناف الذرة البيضاء السكرية المزروعة في البيئات الجافة لاستجابة النبات للجفاف، في حين وجد Massacri وآخرون (1996) عدم وجود أي تباين في تركيز السكر في السوق السكرية للأصناف عند الحصاد بين ظرفي الزراعة المجهدة وغير المجهدة للجفاف ويُعزى ذلك لامتلاك هذه الأصناف آليات أخرى لتحمل للجفاف، وكذلك أظهر الصنف ICSSH30 أعلى قيمة لصفتي طول وقطر السوق السكرية وبالتالي الإنتاج من السوق السكرية في كلا ظرفي الزراعة.

2-2- الخمائر (Yeasts):

أحياءٌ دقيقةٌ وحيدة الخلية، من حقيقيات النوى (Eucaryotic)، تختلف أشكالها وبنيتها من نوع لأخر، فهي مكورة أو بيضوية تتراوح أبعادها بين 3-10 ميكرومتر قطراً و5-30 ميكرومتر طولاً، تتوزع الخمائر

في الطبيعة بشكل واسع، حيث عُزلت من الأوساط مرتفعة التركيز، فيُمكن لبعضها تحمل تراكيز من السكروز تصل إلى 55 % وكما لوحظت في المناطق الباردة (كالخمائر المعزولة من القطب الجنوبي) وفي الطبقات السطحية للتربة، وتوجد الخمائر بشكل طبيعي على الثمار والأوراق الخضراء، وإفرازات النباتات (العصارات النباتية)، وعلى الحشرات (Suh *et al*., 2005)، ويمكن للخمائر النمو في بيئات ذات حموضة عالية تصل حتى pH =1.5 وتراكيز من الايتانول تبلغ 18% (الخياط، 1990). تأتي كلمة "الخميرة" من الانكليزية القديمة من كلمة (Gyst) وتعني الجوهر، استخدمت على مر التاريخ في صناعة الخبيز والتخمير، حيث عثر علماء الآثار في الأنقاض المصرية القديمة على طاحونة حجرية وغرف من أجل الخبز، فضلاً عن رسومات من 4,000 عام قبل الميلاد توضح تناولهم للمشروبات الكحولية والخبز (Phillips, 2009). في عام 1680 م لاحظ لوفنهوك الخميرة بوساطة المجهر، ولم يعتبرها كائنات بل هياكل كروية (Huxley, 1871)، وفي عام 1857م بيَّن لويس باستور في صحيفة "*moire sur la fermentation alcoolique"* الفرنسية بأن عملية التخمر الكحولي تتم بوساطة الخمائر وليس بوجود عوامل محفزة كيميائية (Phillips, 2009)، وأوضح بأن فقاعات الأوكسجين تزيد من نمو خلايا الخميرة وتثبط عملية التخمر، وسُميت هذه الظاهرة بتأثير باستور (Barnett, 2003).

قام Lodder عام 1974 م بتصنيف الخمائر اعتماداً على الصفات المورفولوجية والقدرات الفيزيولوجية، وفي عام 2003 قام Barnett بتصنيف الخمائر بالاعتماد على الاختبارات التقليدية التي تتراوح ما بين 60-90 اختباراً، وطوِّر مؤخراً طرائق سريعة للتغلب على صعوبة استخدام الطرائق التقليدية وإحدى هذه الطرائق هي تقنية الـ API 20 C AUX من الشركة الفرنسية Bio Merieux والتي استخدمت على نطاق واسع وتتكون من 19 اختباراً تمثيلياً، كما تم مؤخراً تطوير طريقة تدعى Rapid Identification Yeast PLUS تتميز بسرعة التمييز خلال 4 ساعات فقط، وذلك اعتماداً على الصفات الفيزيولوجية بحيث لا تتطلب نمو الخمائر لإجراء الاختبارات البيوكيميائية وبالتالي تقلل زمن التشخيص، وتسمح

بالتعرف على الاختلافات مابين أنواع الخمائر (Espinel *et al*., 1998)، في العقد الأخير من القرن الماضي طرأ على التصنيف الميكروبيولوجي تغيراً من خلال إدخال تقنية الـ Polymerase Chian Reaction (PCR) واستخدمت هذه الطريقة للتصنيف الميكروبي بشكل عام ثم اعتمدت في تصنيف الخمائر (White,1990) وتُعد طريقة الـ PCR والمتبوعة بالرحلان الكهربائي وسيلة واعدة للتمييز السريع لسلالات الخمائر الممرضة والمعزولة من مستعمرات نامية على أغار الدم (Shin *et al*., 2001)، وإن أهمية الخمائر ليست مقتصرة بالحالات الممرضة منها مثل خميرة *Candidan albicans*، أو الخمائر المفسدة للأغذية مثل *Zygosacharomyces bailii* و *Debaryomyces hansenii*، وإنما للعديد من الأنواع الأخرى دور هام في الصناعات الميكروبية والغذائية كصناعة الخبز والنبيذ مثل خميرة *Sacharomyces cerevisiae*، ولهذه الأسباب كانت هناك حاجة لاستخدام طرائق تصنيف دقيقة وسريعة لسلالات الخمائر تساعد في مراقبة العمليات الحيوية ومعرفة مصدر تلوث الأغذية، وصُممت التقانات المستخدمة للتصنيف بالاعتماد على السلالات الممرضة كما تستخدم للكشف عن الخمائر الوحشية مثل خمائر الـ *Candida*، وتَعتمد طرائق التشخيص الجديدة هذه بشكل رئيسي على تسلسل الأحماض النيوكليتيدية والتي تتمتع بإمكانية تشخيص عالية (Esteve *et al*., 2001).

تقسم الخمائر من حيث تشكيلها للأبواغ إلى مجموعتين:

1- الخمائر الحقيقية: قادرة على إنتاج الأبواغ الجنسية، وتتبع معظمها للفطور الزقية أو الأسكية Ascomystes والباقي يتبع للفطور الدعامية أو البازيدية Bazidiomycetes.

2- الخمائر الناقصة: غير قادرة على إنتاج الأبواغ الجنسية، وتتبع للصف Deutromycetes، وتتكاثر بشكل رئيسي خضرياً بالتبرعم أو بالانقسام البسيط أو بإعطاء الأبواغ الكونيدية (الخياط، 1990).

تلعبُ الخمائر دوراً هاماً في القطاعات الاقتصادية والصناعية وذلك لاستخدامها في صناعة الخبيز والأغذية العلاجية وإنتاج البروتين وحيد الخلية (الخفاجي، 2008)، والكحول الطبي والوقود الحيوي والمشروبات الكحولية وإنتاج الإنزيمات والمواد الصيدلانية (Satyanarayana and Kunze, 2009)، وتُعد خميرة الخباز *Sacharomyces cerevisiae* من أهم هذه الأنواع، حيث تُعد أساس صناعة الخبيز والمشروبات الكحولية فهي المسؤولة عن رفع العجين من خلال إنتاج غاز CO_2 من تخمر السكريات، وإعطاء النكهة بإنتاجها للمركبات الثانوية مثل الكحول، والاسترات ومركبات الكربونيل التي تسهم في تطوير نكهة الخبز (Paramithiotis *et al*., 2000 ; Damiani *et al*., 1996).

أكد Rao وآخرون (2004) أن الخمائر تُعد أحد أهم أنواع الأحياء الدقيقة لإنتاج البروتين وحيد الخلية ويعود ذلك إلى القيمة الغذائية العالية لبروتين الخميرة، ويشير مصطلح Single Cell Protein (SCP) إلى البروتين وحيد الخلية، الذي أدرج ضمن توصيات المؤتمر العلمي المنعقد في معهد ماستيوس (MIT)، لإعطاء أفضل صورة عن البروتين الميكروبي (Ware, 1977)، وتأتي أهمية إنتاج البروتينات أحادية الخلية في كونها أرخص ثمنًا على المستوى التجاري ويعتمد إنتاجها على المخلفات الصناعية أو الزراعية والتي يسبب طرحها مشاكل بيئية جمة ولا يتأثر بالتغيرات المناخية والكوارث الطبيعية علاوة على إمكانية إنتاج كميات كبيرة منها في وقت قصير مقارنة بالطرائق التقليدية لإنتاج البروتين النباتي والحيواني.

وتنتمي خميرة الخباز *Sacharomyces cerevisiae* إلى مملكة الفطريات Fungi وشعبة الفطور الزقية (الأسكية) Ascomycota والصف *Saccharomycetes* ورتبة *Saccharomycetales* وعائلة *Saccharomycetaceae* وجنس *Saccharomyces* (الخياط، 1990؛ فضول ونفاع، 2006).

وتسلكُ خميرة *S. cerevisiae* نمطين من الحياة، حياة هوائية تستهلك أثناؤها المواد السكرية والأملاح المعدنية الموجودة في الوسط لتنمو وتتكاثر لإنتاج الكتلة الحيوية وتحرير طاقة مختزنة بصورة ATP وحياة

لاهوائية تُخمِّر خلالها المواد السكرية وتحولها إلى كحول إيتيلي و CO_2 مع تحرير قدر بسيط من الطاقة يكفي لابقائها على قيد الحياة (Walker and Stewart, 2016).

2-2-1- تركيب خميرة الخباز Structure of Baker's yeast:

2-2-1-1- الجدار الخلوي The cell wall:

تمتلكُ خلايا الخميرة جداراً خلوياً يتألف من ثلاث طبقات تحتوي الطبقة الخارجية على البكتين الذي يعطي الجدار الصلابة والغلوكان، بوليمير غير متجانس من السكريات، يمنحه القوة الفيزيائية، يُساهم الجدار في إعطاء الخلايا الشكل ويؤمن لها الحماية من العوامل المؤثرة الضارة في بيئة النمو الميكانيكية والفيزيائية كتأثير الحرارة والضغط الحلولي المرتفع والمنخفض (الإنفجار والبلزمة)، وكذلك يشكل ما يشبه المنخل الذي ينظم مرور المواد من وإلى داخل الخلية ويحمي الغشاء السيتوبلاسمي من تأثير الجزيئات الكبيرة الضارة ويؤمن لها الفرصة في البقاء في البيئات الصعبة ويسمح للخلايا بالاتصال مع البيئة المحيطة، ويتصل الجدار الخلوي بواسطة سلاسل من الكيتين والغلوكان (Tizard *et al*., 1989).

2-2-1-2- الغشاء السيتوبلاسمي The cell membrane:

يتألف الغشاء السيتوبلاسمي لخلايا الخميرة، وبشكل مشابه للكائنات الحية الراقية، من طبقة مضاعفة قطبية من الفوسفوليبيدات يتخللها جزيئات سكر المانوز والبروتينات التي إما أن تكون عابرة بالكامل للغشاء أو جزء منها يمتد داخل الغشاء والجزء الآخر يمتد إلى داخل أو خارج الخلية، يمتلك الغشاء خاصية النفوذية الاختيارية، ونتيجة للطبيعة القطبية فإن الغشاء السيتوبلاسمي يُشكل حاجزاً أمام مرور الجزيئات المحبة للماء، وتلعب الجزيئات البروتينية دوراً هاماً في تنظيم إدخال المواد المغذية إلى الخلية مثل الأحماض الآمينية والسكريات والأيونات والمفرازت إلى الخارج مثل الكحول والأحماض العضوية المنتجة، بالإضافة إلى دورها كمستقبلات خلوية وإنزيمات، ولكن بشكل مخالف لحقيقيات النوى التي

يُشكل الكوليسترول، من الستيرولات، المركب السائد في أغشيتها فإن أغشية خلايا الخميرة يغلب في تكوينها الإرغوستيرول، ويختلف تركيب الطبقة الدهنية المضاعفة باختلاف ظروف التهوية في الوسط، حيث تزداد نسبة الأحماض الدهنية المشبعة وتقل نسبة الستيرول والأرغوستيرول والأحماض الدهنية غير المشبعة في ظل الظروف اللاهوائية بالمقارنة مع نسبتها في الظروف الهوائية، وذلك بسبب عدم قدرة الخلايا على تصنيع هذه المركبات بدون الأكسجين (Van der Rest *et al*., 1995).

2-2-1-3- الفجوات Vacuoles:

تمتلكُ خلايا الخميرة، بشكل مشابه للخلايا النباتية، فجوة واحدة كبيرة أو عدة فجوات صغيرة متشابهة تلعب دوراً هاماً في تخزين الأحماض الآمينية والدهنية وإنزيمات الحلمهة مثل البروتياز والأستيراز والليبَّاز والإنزيمات اللازمة لتصنيع البروتينات كذلك تخزين نواتج استقلاب الخلية (Alberts *et al*., 2008).

2-2-1-4- الميتوكوندريا Mitochondria:

وُصفت الميتوكوندريا عند خلايا خميرة الخباز بأنها مغزلية الشكل توجد بالقرب من الغشاء السيتوبلاسمي ولها دور أساسي في تفاعلات الأكسدة لإنتاج الطاقة في الظروف الهوائية وفي حال غياب الأكسجين عن الخلية تتحلل الميتوكوندريا بسبب غياب نشاط عدد من إنزيمات التنفس، وللميتوكوندريا دوراً آخر في اصطناع الحمض النووي RNA (Alberts *et al*., 2008).

2-2-1-5- النواة The nucleus:

تحتوي النواة على قسمين مُميزين هما النوية والبلاسما النووية، وشوهدت النواة بالمجهر الإلكتروني، باتباع طريقة طبع الخلية على الجليد، مقسمة بحزمة ضيقة من الأنابيب (ما يقارب 15 أنبوباً) ذات أقنية مجهرية دقيقة جداً هي الأنابيب المغزلية، والتي تلعب دوراً أساسياً خلال مراحل الإنقسام الخلوي (Alberts *et al*., 2008).

2-2-2- التكاثر ودورة الحياة Reproduction and life cycle:

2-2-2-1- التكاثر اللاجنسي بالبرعمة Asexuall reproduction by budding:

هي الطريقة الأكثر شيوعاً لتكاثر الخميرة، وتلجأ إليه الخلايا في ظروف الوسط المناسبة من حرارة وحموضة وأكسجين وتوفر المواد المغذية، حيث تنشأ براعم صغيرة على الخلية الأم عند مرورها في طور تضاعف الدنا S- phase (DNA Synthesis phase)، وتستمر هذه البراعم بالنمو أثناء الطور التالي G_2 حيث تحضر الخلية الأم نفسها لدخول طور الإنقسام الخيطي (Mitosis phase)، ثم تستطيل نواة الخلية الأم ويدخل جزءاً منها داخل بروز البرعم الجديد، فيحدث الانقسام الخيطي وتتجه نسخة من المادة الوراثية إلى داخل البروز وينفصل البرعم الجديد عن الخلية الأم، ثم يدخل كلاً من الخلية الأم والخلية البنت طور النمو G_1 ويُستخدم حجم الخلايا كمؤشر مورفولوجي للدلالة على أطوار حياة الخلية، حيث يكون البرعم صغير في طور S-phase ثم يكبر تدريجياً مع تقدم أطوار الخلية الأم، وتنشأ على البراعم الجديدة براعم أخرى فتُبدي المستعمرات النامية خلايا ذات أحجام وأعمار مختلفة، وتكون الخلايا ثنائية الصيغة الصبغية بحجم5-6 ميكروميتر أما الخلايا أحادية الصيغة تكون بحجم أقل حوالي 4 ميكروميتر(Herskowitz,1988)، ومن الممكن أن يطرأ على هذه الخلايا إنقسام منصف إختزالي، في الظروف غير المواتية، بحيث يتشكل زق فتي يحتوي على أربع إلى ثمانية أبواغ زقية وقد تضمحل بعض النوى الناتجة عن نواة الخلية الأم فيتشكل لدينا زق بأربع أبواغ زقية يتحول بعدها الزق الفتي إلى زق ناضج، حيث يمتص الماء فينتفخ ويتمدد ويتطاول وبنتيجة الضغط الداخلي يتمزق لتخرج منه الأبواغ الزقية Ascospores وتمر البوغة بمرحلة البرعمة، بعد أن تنتش، لتعطي خلايا أحادية الصيغة الصبغية (n) ثم تعود من جديد للتزاوج (فضول ونفاع، 2006).

2-2-2-2- التكاثر اللاجنسي بالانشطار Asexuall reproduction by binary fission:

يشبه الانقسام الذي يحصل عند الخلايا الجرثومية، وفيه تنقسم الخلية إلى خليتين متساويتين تبقيان متصلتان لفترة من الزمن ثم تنفصلان، وتتم هذه العملية باستطالة خلية الخميرة وانقسام نواتها انقسام خيطي غير مباشر إلى نواتين، دون وجود تركيب مغزلي ولكن بوجود رقعة صغيرة في الغشاء النووي من أقراص متعددة تمتد منها أنابيب دقيقة إلى داخل النواة والسيتوبلاسما وهو ذو علاقة بالإنقسام الخلوي الذي يتكون نتيجة له حاجز عرضي في الخلية يقسمها إلى قسمين ينفصلان عن بعضهما ليعطيا خليتين إعاشيتين، ويتم هذا النمط من الإنقسام عند أنواع الجنس *Schizosaccharomyces* (فضول ونفاع، 2006).

2-2-2-3- دورة الحياة الجنسية Sexual life cycle:

تتواجد خلايا الخميرة بصيغة صبغية مفردة Haploid ومضاعفة Diploid، ولكن تتواجد غالباً بالصيغة المضاعفة (Landry *et al*., 2006)، ويختلف حجم الخلايا الثنائية الصيغة عن أحادية الصيغة تبعاً لتقدم أطوار الخلية وحسب السلالة. تلجأ الخلايا في الظروف السيئة إلى نمط التكاثر الجنسي لتكفل لنفسها البقاء، حيث تندمج نواتي خليتين أحاديتي الصيغة الصبغية من نمطين مختلفين (a مع *a*) حيث يقوم كل نمط بإفراز مركبات ببتيدية تعمل كفرمونات تخبر الخلايا المجاورة بنمط التزاوج الخاص بها، وعند التقاء خلية مع خلية أخرى من نمط التزاوج المعاكس يحدث اندماج بلازمي بين الخليتين ويتشكل لدينا الزيجوت، ثم تندمج النوى ليتشكل لدينا خلية ذات صيغة صبغية مضاعفة (2n) وهنا يمكن لهذه الخلايا حسب ظروف الوسط إما الدخول في تكاثر لاجنسي بالبرعمة لإنتاج خلايا ثنائية الصيغة (2n) أو أن يطرأ عليها انقسام منصف اختزالي يختزل الصيغة إلى (1n) وينتج عنها أربعة أبواغ، بوغين من النمط a وبوغين من النمط *a* (Herskowitz, 1988)، وتكون محاطة بكيس زقي لتقاوم الظروف السيئة، وتنتش عند تحسن ظروف البيئة وتتزاوج فيما بينها لإعطاء خلايا مضاعفة الصيغة تتكاثر من

جديد بالبرعمة، وبهذه الطريقة تكفل الخلايا لنفسها البقاء في الظروف القاسية أثناء التخمر اللاهوائي (Werner-Washburne *et al*., 1996 ; Guthrie and Fink,1991).

2-2-3- العوامل المؤثرة في نشاط الخميرة Factors affect yeast activity:

يتأثر نشاط الخميرة أثناء النمو والتخمر بالعديد من العوامل الفيزيائية والغذائية والتي لا بدَّ من ضبطها للحصول على أعلى مردود من الكتلة الحيوية والإيتانول.

درس Aasli (2010) تأثير رقم الحموضة (pH=3.5، 4، 4.5، 5، 5.5) وتركيز السكر الأولي (5، 10، 15، 20، 25 %) وتأثير مجال من درجات الحرارة في نسبة الإيتانول الناتجة باستخدام خميرة *S. cereviseae*، وبيَّن أن رقم الحموضة pH = 4.5 أعطى أعلى نسبة من الإيتانول، في حين أعطى الرقم pH = 3.5 أقل نسبة، وفسَّر ذلك بانخفاض فعالية الإنزيمات في استقلاب وتخمير السكريات مع انخفاض رقم الحموضة، ووجد أن زيادة تركيز السكر الأولي أدى إلى زيادة نسبة الإيتانول، ولكن تطلّب ذلك زمناً أطول لإتمام عملية التخمر، وكانت أعلى نسبة للسكر المستهلك (100%) عند تركيز سكر أولي 5 و10 %، وحصل على أعلى مردود من الإيتانول، محسوباً على أساس كمية السكر المستهلك، عند تركيز سكر أولي 10 %، في حين أعطى التركيز 15 % المردود الأقل، وبيَّن أن رفع درجة الحرارة من 28°م إلى 30°م و32°م أدى إلى زيادة نسبة الإيتانول الناتجة وكذلك كمية السكر المستهلك، وحصل على أعلى نسبة عند الدرجة 32°م، ولكن استمرار رفعها أدى إلى انخفاض هذه النسبة، حيث حصل على أقل نسبة من الإيتانول عند الدرجة 40°م.

2-2-3-1- تركيز السكر والضغط الأسموزي Sugar concentration and osmotic pressure:

تحصل خميرة الخباز على الكربون والطاقة اللازمة لها أثناء نشاطها، ولإبقائها على قيد الحياة من استقلاب المركبات العضوية المتاحة في وسط النمو، وتُشكِّل السكريات القابلة للتمثيل، كالغلوكوز

والسكروز والمالتوز، المصدر الرئيسي للكربون والطاقة ويتم ذلك عبر مسارات التحلل السكري، حيث يتحول الغلوكوز إلى حمض البيروفيك وفق المعادلة الإجمالية التالية:

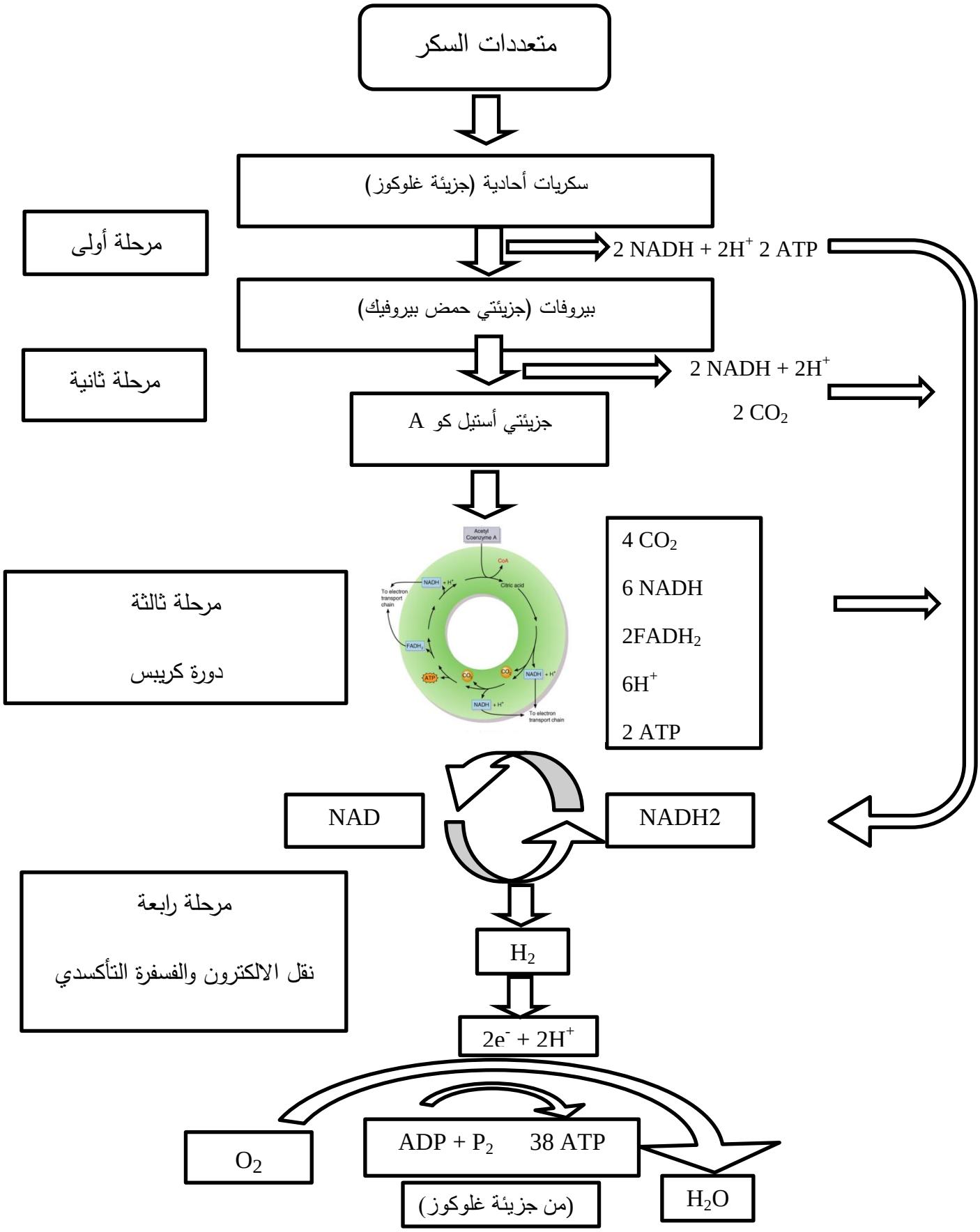
$$C_6H_{12}O_6 + 2ADP + 2Pi + 2NAD^+ \longrightarrow 2CH_3COCOOH + 2ATP + 2NADH_2 + 2H^+$$

ثم يتحول حمض البيروفيك بنزع الكربون إلى أستيل كو آ COA والذي بدوره يتأكسد عبر دورة كريبس في وسط نمو هوائي إلى ماء وغاز CO_2 مع تحرر طاقة على شكل ATP حسب الشكل(2)، وفي الظروف اللاهوائية ترجع البيروفات إلى أست ألدهيد والذي يُرجع بدوره إلى إيتانول وثاني أكسيد الكربون مع طاقه مختزنه بصورة ATP (Marina, 2015)، وفق المعادلات التالية:

$$CH_3CHOCOOH \xrightarrow{\text{بيروفات ديكربوكسيلاز}} CH_3C{=}O\text{-}H + CO_2$$

$$CH_3\text{-}CH_2OH + NAD^+ \xrightarrow{\text{الكحول ديهايدروجيناز}} CH_3C{=}O\text{-}H + NADH_2$$

وبالنسبة للسكريات الثنائية والمعقدة فيتم أولاً تفكيكها إنزيمياً إلى السكريات البسيطة المكونة لها، فالسكروز يتم حلمهته بوساطة إنزيم الإنفرتاز الخارج خلوي إلى جزيئتي الغلوكوز والفركتوز والتي تدخل مسار التحلل السكري، ويتأثر نشاط الخميرة بتركيز السكريات في الوسط، حيث أن التراكيز المرتفعة تُشكل عاملاً مثبطاً لإنزيمات التنفس (مسار الأكسدة) أو ما يدعى Crabtree effect، وبالتالي تتجه خلايا الخميرة في مسار تخمير السكريات وإنتاج الإيتانول من أجل الحصول على الطاقة اللازمة لها، أما عند التراكيز المنخفضة نسبياً ومع توفر الأكسجين فإن الخلايا تتجه في مسار الأكسدة Pasture effect، حيث تتكاثر وتنمو لإعطاء الكتلة الحيوية، ولكن عند الانخفاض الشديد في تركيز السكريات تنخفض كمية المواد المغذية اللازمة للنمو وبالتالي تنخفض كمية الخميرة الناتجة، وعليه فإن أمثلة تركيز السكريات يُعد عاملاً ضرورياً للوصول إلى التركيز الأمثل الذي يُعطي أعلى مردود من الكتلة الحيوية أو الإيتانول (Rincon *et al.*, 2001; Bekatorou *et al.*, 2006; Walker and Stewart, 2016).



شكل (2): مسار تفاعلات التحلل السكري.

2-2-3-2 -2- الحموضة Acidity:

يتأثر نشاط الخميرة بشكل مباشر بالشروط الفيزيائية للوسط وتُشكل درجة الحموضة أحد أهم هذه الشروط، وعموماً تُعد خميرة الخباز من الكائنات المحبة للحموضة، حيث يُشكل مجال pH بين 4.5 و5.5 المجال الأمثل للنشاط (Walker and Stewart, 2016; Jiru, 2009)، وإن ارتفاع أو انخفاض حموضة الوسط يؤثر في نشاط خلايا الخميرة، حيث يؤثر تركيز شوارد الهيدروجين H^+ على نفاذية جدر الخلايا للعناصر المغذية، وفي نشاط الإنزيمات التي تفرزها الخميرة أثناء التخمير لتحويل حمض البيروفيك إلى إيتانول، وبالتالي تتأثر كمية الخميرة أو نسبة الإيتانول الناتجة، وكذلك إن انخفاض رقم الحموضة يضفي لوناً داكناً على الخميرة بسبب ترسب الملونات الموجودة في الوسط على الجدار الخلوي للخلايا بحيث يصبح غير قادر على التبادل الأسموزي وبالتالي انخفاض معدل النمو، وكذلك عند ارتفاع رقم الحموضة فإن التفاعلات الحيوية تتوقف وتصبح الخلايا غير قادرة على الاستفادة من المواد المغذية (الخياط، 1990)، وتُشكل درجة الحموضه العالية عاملاً محدداً يعيق نمو الأحياء الدقيقة الأخرى الملوثة في الوسط، ويُستخدم عديد من الأحماض مثل حمض كلور الماء وحمض الكبريت لضبط درجة حموضة الوسط (Prescott and Dunn, 1959).

درس Jiru (2009) تأثير خمس درجات حموضة (pH=3.5، 4، 4.5،5، 5.5) في المردود من الكتلة الحيوية لثلاث سلالات من خميرة *S. cerevisea e*، وبيَّن وجود علاقة تفاعل مشترك بين رقم الحموضة وزمن التخمير والسلالة المدروسة، وكانت جميع السلالات المدروسة فعَّالة ضمن المدى المدروس من رقم الحموضة ولكن تأثَّر مردود الكتلة الحيوية بتغيُّر حموضة الوسط، حيث ازداد مع ارتفاع رقم الحموضة من pH =3.5 إلى pH =4 وعندها أعطت السلالة TE أعلى كتلة حيوية وبعد 48 ساعة من التخمير، في حين أعطت السلالة TL أعلى كتلة حيوية عند رقم الحموضة.pH=4.5 وبعد 48 ساعة من التخمير أما السلالة BA أعطت أعلى كتلة حيوية عند الرقم pH= 5 ولكن بعد 24 ساعة من التخمير.

ودرس Kundiyana وآخرون (2010) تأثير درجات حموضة مختلفة مع إضافة اليوريا كمصدر للآزوت في المردود من الإيتانول المُنتج من عصارة الذرة البيضاءالسكرية، وبيَّن أن رقم الحموضة pH= 4.3 أعطى أعلى نسبة من الإيتانول 7.9 % (وزن/ حجم) ودون الحاجة لإضافة اليوريا.

2-2-3-3- الزمن Time:

تمر الخميرة أثناء نشاطها بأربعة أطوار، في الطور الأول Lag phase تكون الخميرة في حالة تأقلم مع الوسط الجديد والتمهيد للإنقسام والتكاثر حيث يتضاعف الدنا وتنشط خلاله مسارات الاستقلاب لتأمين المواد المغذية اللازمة للنمو، وتتوقف مدة هذا الطور على حجم اللقاح وشروط بيئة النمو، ولا تنقسم الخلايا في هذا الطور وإنما يزداد حجم ووزن الخلايا وفي نهاية الطور تبدأ الخلايا بالتبرعم، حيث تدخل الخميرة طور النمو اللوغاريتمي (Exponential Phase) وتتضاعف أعداد الخلايا بشكل سريع مع وجود تناسب طردي بين الزمن ولوغاريتم الخلايا الناتجة الموجودة في كل سم^3، وتؤثر عوامل الوسط الأخرى على طول هذا الطور فتستمر أعداد الخلايا بالزيادة حتى تصل إلى قمة النمو (طور الثبات Stationary phase)، وهنا يكون معظم الغذاء قد استنفذ وعملية التكاثر تصبح بطيئة وتبدأ عملية التخمر اللاهوائي، ثم تبدأ مرحلة رابعة، وهي طور التراجع، يزداد فيها عدد الخلايا الميتة بسبب نقص المواد المغذية وتأثير تركيز الإيتانول المرتفع على الخلايا (Walker and Stewart, 2016)، وعلى أية حال، فإن لكل كائن مجهري معدلات نمو مختلفة تعتمد على البيئة الغذائية فإذا كانت هذه البيئة والظروف الأخرى من حرارة وpH وتهوية مثالية فإن منحنى نمو الكائن الدقيق يتحدد بالأطوار الأربعة التالية: الطور الابتدائي، الطور اللوغاريتمي والطور الثابت وطور التحلل.

2-2-3-4- التهوية Aeration:

تُشكل التهوية أحد أهم العوامل المؤثرة على معدل نمو الخميرة، حيث يزداد معدل النمو والانقسام بازدياد معدل التهوية، وبالتالي يزداد المردود من الكتلة الحيوية بسبب ازدياد معدل عمليات الأكسدة والاستقلاب واستهلاك مغذيات الوسط مع تثبيط مسار إنتاج الكحول الإيتيلي (Prescott and Dunn, 1959)، وبيَّن Jiru (2009) أن الأكسجين يلعب الوظائف الرئيسية التالية:

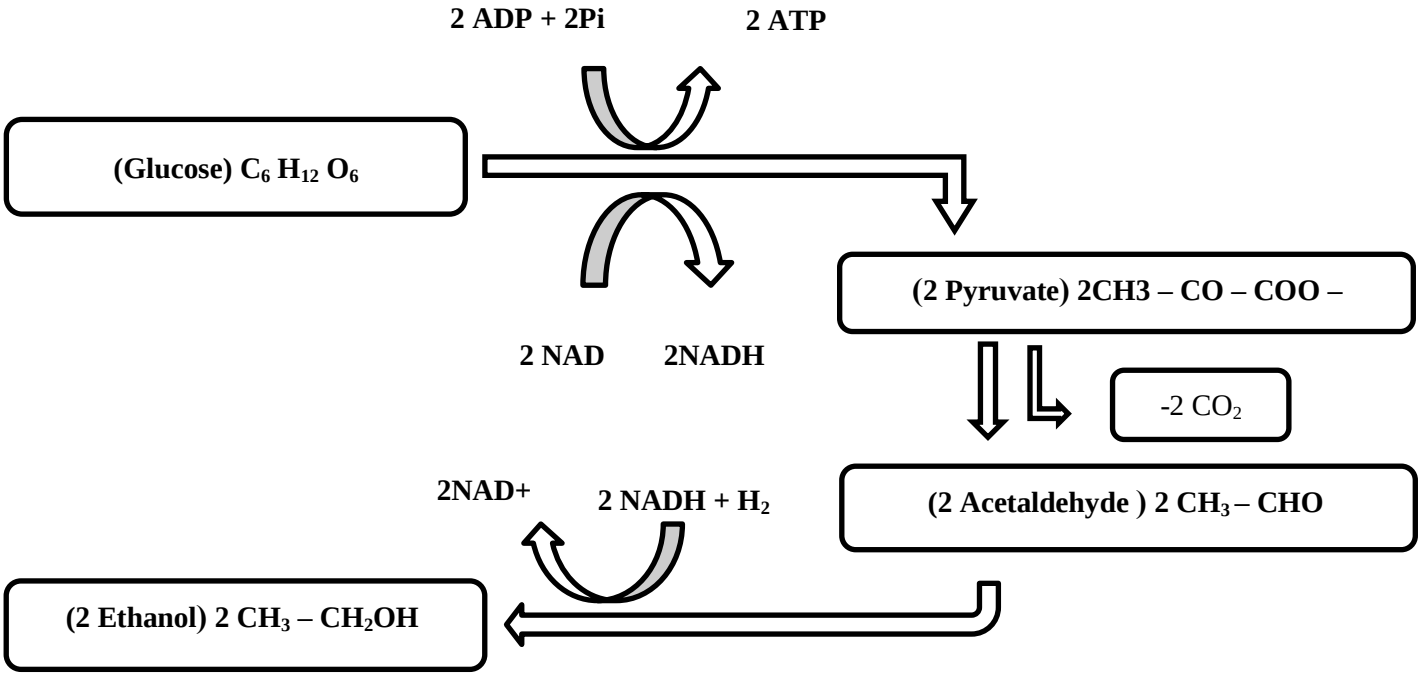
1- زيادة معدل الأكسدة الخلوية.

2- يُحفز الانقسام الخلوي والبرعمة.

3- يُساعد في تصنيع الأحماض الدهنية التي تدخل في تركيب الجدر الخلوية للخلايا الجديدة.

4- يُحفز إنتاج الجزيئات التي تساهم في استقلاب السكريات .

تتوقف مسارات إنتاج الطاقة بشكل كبير على توفر الأكسجين في الوسط، حيث تتعطل آلية إعادة أكسدة NADH التي تنتج من NAD^+ أثناء تحلل السكر عندما تكون كمية الأوكسجين قليلة، حيث تقوم الخمائر تحت الظروف اللاهوائية بتحويل حمض البيروفك الناتج عن مسار التحلل السكري إلى أست ألدهيد والذي بدوره يُرجع إلى إيتانول وثاني أكسيد الكربون مع طاقه مختزنه بصورة ATP الشكل(3)، إلا أن هذا المسار يحد من كمية الطاقة المتحررة لكل مول من الغلوكوز وبالتالي للحصول على كمية محددة من الطاقة يتطلب استهلاك كمية أكبر من السكر في الظروف اللاهوائية عنه في الظروف الهوائية.



شكل (3) آلية التخمر في الظروف اللاهوائية.

2-2-3-5- تركيز الآزوت Nitrogen concentration:

يُعد الآزوت عنصراً هاماً في حياة الخميرة، حيث يدخل في تركيب الأحماض الآمينية التي تكون البروتينات البنيوية والبروتينات الوظيفية والأحماض النووية وكذلك يلعب دوراً أيضياً في إنتاج مواد النكهة للمشروبات الكحولية الناتجة، وطالما أن خميرة *S.cerevesiae* لا تثبت الآزوت الجوي وبالتالي فهي تحتاج لتوفر الآزوت بشكل قابل للتمثيل في وسط النمو وتستطيع الخميرة استخدام كلاً من الآزوت المعدني والآزوت العضوي، وتُعد أملاح فوسفات الأمونيوم واليوريا من أكثر المصادر الآزوتية استخداماً، ولكن يمنع استخدام اليورياعند إنتاج المشروبات الكحولية مثل البيرة وذلك لإمكانية تشكل مركبات الإيتيل كربامات المسرطنة (Walker and Stewart, 2016).

درس Jiru (2009) تأثير إضافة سلفات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ بنسبة 0.5 % (وزن/ حجم) إلى في المردود من الكتلة الحيوية لثلاث سلالات من خميرة *S. cerevisea e* منتجة من مولاس قصب السكر، وبيَّن أن إضافة السلفات أدى إلى زيادة كمية الخميرة الناتجة بمقدار مرة ونصف إلى مرتين ولجميع

السلالات المدروسة بالمقارنة مع المولاس الذي لم يضف إليه السلفات، وذلك بعد 48 ساعة من التحضين على حرارة 30°م مع ضبط رقم الحموضة على pH = 4.5.

ودرس Liu وآخرون (2009) تأثير إضافة مصادر مختلفة من الأملاح اللاعضوية على المردود من الإيتانول، وبيَّن أن إضافة سلفات الأمونيوم بتركيز 0.20 % أعطى أعلى مردود، وفسِّر ذلك بقدرة سلفات الأمونيوم $(NH_4)_2SO_4$ على ضبط حموضة الوسط والحفاظ على ثباتية رقم الحموضة إضافةً إلى إمداده الخميرة بعنصر الكبريت الضروري لها.

درس Laopaiboon وآخرون (2009) تأثير إضافة مصادر مختلفة من الآزوت (3 غ / ليتر مستخلص خميرة، 5 غ / ليتر بيبتون، 0.5 % سلفات الأمونيوم) بهدف زيادة مردود الإيتانول من عصارة الذرة البيضاء السكرية باستخدام خميرة *S. cereviseae*، وحصل على أعلى مردود عند إضافة مستخلص الخميرة والبيبتون، في حين أدى إضافة سلفات الأمونيوم بتركيز 0.5 % إلى خفض المردود إلى 14 % بالمقارنة مع العينة التي لم تحتو على أية إضافة.

2-2-3-6- الحرارة Temperature:

تُصنف الخمائر من الأحياء الدقيقة غير المتحملة للحرارة العالية، وتختلف حرارة النمو المثلى لها باختلاف النوع، ويتجلى دور درجة الحرارة من خلال تأثيرها في معدل نمو الخميرة ويكون هذا التأثير إما محفزاً أو مثبطاً أو قاتلاً، كذلك تؤثر درجة الحرارة على معدل سير التفاعلات الكيميائية خلال نشاط الخميرة وتتطلب الخمائر مدى محدد من درجات الحرارة، حيث تنمو ضمن مجال يتراوح بين 10-40 °م فينخفض معدل النمو بارتفاع درجة الحرارة حتى تموت معظم أنواع الخمائر عند الدرجة 50 °م نتيجةً لتخثر بروتينات وإنزيمات السيتوبلاسما، ولتوقف عمليات التصنيع الحيوية وانخفاض قابلية الانقسام

الخلوي، وكذلك ينخفض معدل النمو مع انخفاض الحرارة حتى يتوقف عند الدرجة 10 °م نتيجة تثبيط إنزيمات الخميرة المحللة للمواد المغذية .

درس Jiru (2009) تأثير ثلاث درجات حرارة (25، 30، 37° م) في المردود من الكتلة الحيوية لثلاث سلالات من خميرة *S. cereviseae* تم إكثارها على مولاس قصب السكر، وبيَّن أن جميع السلالات أبدت بطأً في النمو عند درجات الحرارة 25° م و37° م، وحصل على أعلى كتلة حيوية عند الدرجة 30°م مع ضبط درجة الحموضة عند الرقم pH= 4.5 وخلال 24 إلى 72 ساعة من التخمير حسب السلالة المدروسة.

بيَّن Tahir وآخرون (2010) عند دراسة تأثير درجة الحرارة (10، 20، 30، 40° م) في مردود الإيتانول الناتج من مولاس قصب السكر باستخدام السلالة *S. cerevisiae* bio-07 المعزولة محلياً، أن نسبة الإيتانول تأثرت معنوياً بدرجة حرارة التخمير وأن الدرجة 30°م أعطت أعلى مردود من الإيتانول (76.8 غ/ ليتر) عند ضبط درجة الحموضة عند الرقم pH = 4.5 وحجم اللقاح 3 % وتركيز السكر الأولي 15 %، وانخفض هذا المردود إلى (0.5 غ/ ليتر) عند رفع الحرارة إلى الدرجة 40°م.

2-2-3-7- المركبات اللاعضوية Inorganic components:

بالرغم من أن خلايا الخميرة تستطيع تصنيع العديد من المواد اللاعضوية، فإن العديد منها لا بدَّ من توافرها في وسط النمو والتخمر، والتي يمكن أن تُشكل عاملاً محدداً لنشاطها، حيث تتطلب الخميرة توافر الأملاح المعدنية ويقدر احتياجها بالميلي مول بالنسبة لـ الفوسفور والبوتاسيوم والمغنزيوم وبالميكرمول بالنسبة لـ الصوديوم والكالسيوم والحديد والزنك والنحاس، وعلى أية حال فإن الركائز الشائعة المستخدمة في إكثار الخميرة وإنتاج الإيتانول الحيوي، كمولاس الشوندر السكري وقصب السكر، تحتوي على كميات كافية من المواد اللاعضوية التي تحتاجها الخميرة، ولكن تتعرض بعض هذه العناصر الهامة مثل الزنك

للترسب في أوساط النمو الصناعية مما يتطلب إضافته للوسط نظراً لدوره الهام كمساعد إنزيم Alcohol dehydrogenase في تفاعلات إنتاج الإيتانول، ويطلق على عدم توفر الزنك بالكمية والشكل القابل للتمثيل بعوز الزنك والذي يسبب بطئ في التخمير وإنتاج الإيتانول (Walker and Stewart, 2016)، كذلك الأمر بالنسبة للفوسفور الضروري للتصنيع الحيوي للمادة الوراثية الدنا والفوسفوليبيدات التي تدخل في تركيب الأغشية الخلوية ومركبات الطاقة ATP، ويتم إضافته لوسط النمو على شكل أملاح الفوسفات.

2-2-4- بعض الركائز المستخدمة في إنتاج خميرة الخباز Substrates which are usually used in Baker's yeast production

تُستخدم مخلفات الصناعات الغذائية والزراعية مثل مولاس الشوندر السكري ومولاس قصب السكر كركائز لإكثار خميرة الخباز ولإنتاج الإيتانول الحيوي على المستوى التجاري. عرَّف طحلة والمصري (1993) المولاس بأنه سائل لزج ذو قوام كثيف ولون داكن، وهو ناتج ثانوي عرضي عن مرحلة البلورة النهائية في مصانع السكر، ويسمى عادة (دبس السكر) أو العسل الأسود ويشبه إلى حد كبير دبس التمر، وكلمة مولاس مشتقة من الاسم اللاتينية Melac وتعني شبيه العسل، كما تعني في اللغة الإغريقية (أسود)، ويختلف تركيبه باختلاف المادة النباتية الأساسية وظروف نموها وزراعتها والعمليات والإضافات التصنيعية، وبالتالي تؤثر ظروف المناخ والتربة والتسميد والري وعمليات الحفظ والتخزين وطرائق استخلاص وبلورة السكروز والمواد المضافة أثناء التصنيع في تركيبه، وينتشر على المستوى العالمي مولاس قصب السكر الذي يُشكل 75% من المولاس المستخدم عالمياً، والذي يأتي من قصب السكر المزروع في المناطق المدارية الدافئة من آسيا وأمريكا الجنوبية، ومولاس الشوندر السكري الذي يُزرع في أقاليم المناخ المعتدل (نقشو، 2014)، ويُعدان من المصادر الرخيصة للكربوهيدرات (45 -55 %) القابلة للتمثيل كالسكروز والغلوكوز، وإن استخدام هذه الركائز السائلة في إكثار الخميرة سهَّل عمليات

التصنيع وقلَّل من تكاليف الإنتاج (Jiru, 2009)، ويتشابه مولاس قصب السكر والشوندر في التركيب، ويوضح الجدول (5) التركيب الكيميائي لكل منهما، ويفتقر المولاس إلى العديد من المركبات الضرورية لنشاط الخميرة والتي يجب إضافتها قبل النمو مثل مصادر النتروجين والفوسفور كاليوريا والفوسفات ثنائية الأمونيوم والبيتون بالإضافة لأملاح الكالسيوم والمغنزيوم والعناصر الصغيرة كالحديد والنحاس وبعض الفيتامينات.

الجدول (5): مقارنة بين الخواص الكيميائية لمولاس قصب السكر ومولاس الشوندر السكري.

المكون	نوع المولاس	
	قصب السكر %	الشوندر السكري %
السكريات الكلية	58-50	58-48
النتروجين	0.5 - 0.08	2.8 - 0.2
المادة الصلبة الذائبة الكلية	85-78	85-78
الكربون	33-28	34-28
الرماد	7.5 - 3.5	8- 4
P_2O_5	0.07 - 0.009	0.07 - 0.02
MgO	0.05 - 0.025	0.1- 0.01
K_2O	2.2 - 0.8	4.5 -2.2
SiO_2	0.3 - 0.05	0.5 - 0.1
Al_2O_3	0.04 - 0.01	0.006 - 0.0005
Fe_2O_3	0.01 - 0.001	0.02 - 0.001

المصدر (Jiru, 2009).

2-2-5- صناعة خميرة الخباز Baker's yeast production :

2-2-5-1- تاريخ صناعة الخميرة History of yeast production:

لاحظ الإنسان منذ القدم، أنّ ترك العجين فترةً من الزمن ضمن شروط مناسبة من درجة الحرارة يجعل من العجين كتلة إسفنجية القوام، تنتفخ عند تعرضها للحرارة، ويُعتقد أن الفراعنة هم أول من استخدم تخمير العجين في صناعة الخبز (صادق،2005).

يعود تاريخ الحصول على الخميرة الطرية واستخدامها في صناعة الخبز لأول مرة إلى معامل الكحول (المشروبات الكحولية)، حيث كانت الخميرة في ذلك العصر هي عبارة عن منتج ثانوي (رواسب) في المخمر الكحولي، ونظراً لزيادة الحاجة إلى استهلاك الخميرة طُورت تقنيات أساليب صناعتها وإنشاء مصانع لإنتاجها وذلك منذ عام 1880م، وأصبحت مستقلة عن معامل الكحول، ونتيجة لذلك أصبح منتجها الرئيسي هو الخميرة الطرية والمنتج الثانوي هو الكحول، ثم نتيجة لزيادة التقنية في هذه الصناعة اقتصر إنتاج هذه المصانع على الخميرة فقط.

لم يكن يوجد مصانع للخميرة في أوروبا في العصور الوسطى، بل كان يوجد مصانع للبيرة والكونياك فقط وقد قامت هذه المصانع ببيع الرواسب الناتجة عن تخمر منتجاتها بعد تصفيتها في أكياس خام لاستخدامها كخميرة في صناعة الخميرة (Damiani *et al.*, 1996).

وفي عام 1780م انتشر في هولندا استخدام هذه الخميرة بشكل واسع ثم امتدَّ استخدامها إلى باقي الدول الأوربية المجاورة وكانت المواد الأولية لهذه الصناعة هي الحبوب بنسبة 70 % من الذرة، وكان مردود الخميرة الناتجة من التخمر الكحولي 6 -8 كغ خميرة من 100 كغ حبوب وحوالي 30 لتر كحول.

قام Mauther وآخرون بين عامي 1840م - 1850م في النمسا بتطوير هذه الطريقة للحصول على الخميرة بمردود حتى 12% بإضافة مواد سكرية بدلاً من الذرة (Almeida and Pais,1996)، وفي الأعوام 1850- 1870م اكتشفت المصافي المكبسية واستخدمت لأول مرة للتصفية في مدينة Halle في

ألمانيا، ومنذ هذا التاريخ بدأ Pasteur بالبحث العلمي للخمائر واستقلاب المواد الأولية (تحويل المواد المغذية إلى طاقة).

خلال الأعوام 1870- 1880م أُسس معهد البحوث العلمية للتخمر في برلين عام 1874م من قبل اتحاد المشروبات الكحولية وعرف باسم معهد تكنولوجيا الصناعات الحيوية التابع لجامعة برلين الهندسية (Esteve -Zarzoso *et al*., 1998).

استخدم في العام 1880 م التخمير بالطريقة الهوائية (ضخ الهواء في سائل التخمر) من أجل رفع مردود التخمر وتخفيض مردود الكحول، وقد شاع استخدام هذه الطريقة في جميع أنحاء العالم وبذلك ارتفع مردود الخميرة حتى 20% و20% كحول من 100 كغ حبوب وكانت نسبة الماء إلى الحبوب في هذه الطريقة 1 إلى 10 وكمية الهواء في الساعة 12-15م^3، ونتيجة تطور التقنية الصناعية خلال الأعوام 1890-1915 م تطورت صناعة فارزات الخميرة بشكل جيد وصناعة خزانات الخميرة بتعديل نظام التهوية وإدخال وشيعة التبريد وازدادت سعة خزانات التخمر إلى حوالي 50-55 % ذرة و25-30% شعير و10-15% خلاصة المالت، وبهذه الطريقة أصبحت نسبة الحبوب إلى الماء 1 إلى 15 وكمية الهواء بالساعة 50-80 م^3 ونتيجة انخفاض البريكس وزيادة كمية الهواء ارتفع المردود إلى 40 كغ خميرة و10-12 ليتر كحول من 100 كغ حبوب (Annan *et al*., 2003).

صدر في ألمانيا خلال الحرب العالمية الأولى بين عامي 1915 - 1920 م قراراً يمنع استخدام الحبوب في صناعة الكحول والخميرة مما دعت الحاجة إلى البحث عن بديل آخر للحبوب يستخدم كمادة أولية لهذه الصناعة خلال هذه الفترة، واعتُمدَ المولاس كمادة أولية عوضاً عن الحبوب ولكن استخدام المولاس جلب العديد من الصعوبات خلال عملية التخمر كانخفاض نسبة الآزوت وبعض العناصر الضرورية لنمو الخلايا الخميرة وأصبح لون الخميرة الناتجة داكناً.

طُورت في عام 1915 الطريقة المستمرة من قبل اتحاد صناعة المشروبات الكحولية (براءة اختراع رقم DRP3O-662-303-221) في ألمانيا وفي العام 1919 م في السويد (ببراءة اختراع رقم 056–428)، وذلك بإضافة المولاس إلى خزان التخمر بشكل تدريجي مع التحكم بالكمية المضافة حسب نمو الخلايا في الخزان، وفي هذه الطريقة لا تضاف المواد المغذية والمولاس دفعة واحدة كالطرائق السابقة بل تضاف خلال عملية النمو وموزعة على مدة التخمر بشكل مدروس، وأمكن بهذه الطريقة زيادة المردود من الخميرة وتقليل نسبة الكحول المتشكل.

شاع خلال الأعوام 1920 - 1930 م استخدام هذه الطريقة في كل مكان وخاصة بعد استعمال فارزات رواسب المولاس وتطورت طريقة تحميض وتعقيم المولاس للتخلص من الرواسب مما أدى إلى تحسين مواصفات المولاس والخميرة وتبع ذلك تطور أنابيب توزيع الهواء داخل خزانات التخمر.

إن تكاثر خلايا الخميرة تدريجياً بدءاً من الزرع في المخبر وحتى الحصول على الزرعة الأولى أصبح عملاً في منتهى الدقة.

في مرحلة البادئ النقي يُضاف جزءاً من المولاس المحضَّر سابقاً دفعة واحدة مع البدء بتهوية خفيفة، وخلال هذه المرحلة تكون نسبة الكحول عالية وكمية الخميرة قليلة، وبعد ذلك ترفع كمية الهواء تدريجياً ويُضاف المولاس الممدد حتى يبلغ مردود الخميرة حوالي 30-40 % في نهاية تخمر الزرعة الأولى، وفي نهاية التخمر التجاري تزداد كمية الخميرة وتصبح خالية من الكحول تماماً (Annan *et al*., 2003).

خلال الأعوام 1930–1945 م طُورت تجهيزات ومعدات صناعة الخميرة بشكل سريع وخاصة أجهزة التحكم الأوتوماتيكية لإضافة المولاس إلى المخمرات وأجهزة لتعقيم للمولاس وتوزيع الهواء بشكل متجانس نتيجة لتطور صناعة الأنابيب وتطور مضخات الهواء وبمردود عالي، كذلك تطورت المصافي المكبسية واستخدام مصافي التخلية (الدوراة) التي تعمل بشكل مستمر، وآلات التقطيع والتغليف واكتشاف طرائق تجفيف الخميرة وتعبئتها لأول مرة في الولايات المتحدة الأمريكية.

أوضح Stanbury وآخرون (1995) الطرائق الصناعية لإنتاج الخميرة والإيتانول في المخمرات الكبيرة على المستوى التجاري، وقارن بين هذه الطرائق من حيث مزايا وعيوب وآلية التغذية في كل طريقة، حيث بيَّن أن التخمير بطريقة الدفعة الواحدة هو نظام مغلق تضاف فيه المغذيات في بداية التخمر فقط، ويُلقح بالبادئ ويترك حتى إتمام عملية التخمر، ثم يتم حصاد نواتج التخمر في نهاية التخمير، وتتميز هذه الطريقة بأنها بسيطة ويتم خلالها تحويل للركيزة بشكل كامل لإعطاء منتجات متنوعة إلا أن إنتاجيتها منخفضة ولا يمكن التحكم بشروط النمو من حموضة وتهوية وحرارة حيث تبقى ثابتة خلال التخمر، وأدواتها ذات أحجام كبيرة وتحتاج إلى عمالة كبيرة ولفترات تعقيم دورية بعد كل عملية تخمر.

أدخل Yoshida وآخرون (1973) مصطلح التخمير بطريقة التغذية على دفعات Fed-Batch للتعبير عن التخمر بطريقة الدفعة الواحدة مع إضافة دفعات من وسط التخمير أو محاليل من المواد المغذية الضرورية بشكل مستمر أو متعاقب، من غير إزالة كميات مقابلة من الوسط، وبالتالي زيادة حجم وسط النمو أو دون زيادة معنوية في الحجم وذلك بإضافة مركزات عالية من المواد المغذية الضرورية، وتتميز هذه الطريقة بأنها تقليدية (إكثار الخميرة) وحديثة (إنتاج البروتينات العلاجية) ويمكن التحكم بتراكيز المواد المغذية الضرورية، وتحسِّن طور النمو الأسي (كثافة عالية للخلايا)، ويتم خلالها تحويل للركيزة بشكل كامل إلا أنها تحتاج إلى عمالة كبيرة، وغير متوازنة، ومعدل النمو قليل.

أوضح Liden (2002) أن الطريقة المستمرة هي نظام تخمر مفتوح يتم فيه إضافة وسحب كميات متساوية من وسط التخمير بشكل مستمر أو بشكل دوري، كميات متساوية خلال فواصل زمنية متساوية، وبالتالي عدم حدوث زيادة في الحجم، وتتميز هذه الطريقة بإنتاجية عالية مع القدرة على التحكم بشروط التخمر، وبمعدل نمو كبير، وبكفاءة استخدام عالية لمُفاعلات التخمير والتي تكون صغيرة الحجم، ولاتحتاج لعمالة كبيرة أو فترات تعقيم دورية، حيث يُضاف الوسط بشكل معقَّم.

درس Hutkins (2006) آلية إنتاج خميرة الخباز بطريقة الدفعة الواحدة بإكثارها على المولاس للحصول على الخميرة الطرية والجافة، واستعمل صادق وحناوي (2010) المولاس (شراب الطبخة الأخيرة الناتج عن تصنيع الشوندر السكري لإنتاج السكروز)، كركيزة لإنتاج خميرة الخباز بالطريقة نصف المستمرة.

يوجد في سوريا أربعة معامل لإنتاج الخميرة (شبعا، حرستا، حلب، حمص) تختلف فيما بينها بطاقاتها الإنتاجية ونوع الخميرة الناتجة، حيث تختلف في أحجام المخمرات وطرائق العمل حسب المنتج النهائي (جافة أو طرية)، وبلغ إجمالي الإنتاج في العام 2011 م 37 ألف طن، وتعتمد هذه المعامل على مولاس الشوندر السكري الوارد من مصانع السكر، بعد تحضيره ليصبح قابلاً للاستعمال، كوسط تخمر لإنتاج خميرة الخباز صناعياً، وعليه تُعد تهيئة المولاس مرحلة هامة وتتضمن العمليات الآتية:

أولاً: التمديد. ثانياً: التحميض. ثالثاً: التعقيم. رابعاً: الفرز. خامساً: إغناء المولاس، (صادق، 2005).

2-5-2-2- مرحلة تهيئة المولاس لإنتاج الخميرة صناعياً Molasses preparation:

تمديد المولاس (تخفيف المولاس) Molasses dilution:

يُمدد المولاس بوساطة الماء المعالج، للوصول إلى درجة البريكس المناسبة لنمو الخميرة 6−7 %.

تحميض المولاس Molasses acidification:

لتهيئة الوسط المناسب لنمو الخميرة، يُخفض رقم حموضة المولاس إلى pH =2.8- 3 بغرض القضاء على الأحياء الدقيقة الملوثة للمولاس وذلك بإضافة حمض الكبريت H_2SO_4 أو حمض كلور الماء HCl، ويُفضل استخدام حمض كلور الماء لما له من آثار واضحة على تحسين نوعية الخميرة المنتجة ولضمان عدم تشكل الجبس $CaSO_4$ الذي يترسب على سطوح التبادل الحراري، ومن ثم تعدَّل هذه الدرجة المرتفعة من الحموضة إلى رقم الحموضة المثالي لنمو خميرة الخبز وهو pH= 4.5 -5.

تعقيم المولاس Molasses sterilization:

يُعقم المولاس بالطريقة الحديثة على مرحلتين:

المرحلة الأولى: في المبادل الحراري حيث يتم رفع درجة محلول المولاس إلى 75% بمساعدة تيار معاكس من محلول المولاس المعقم (90°م).

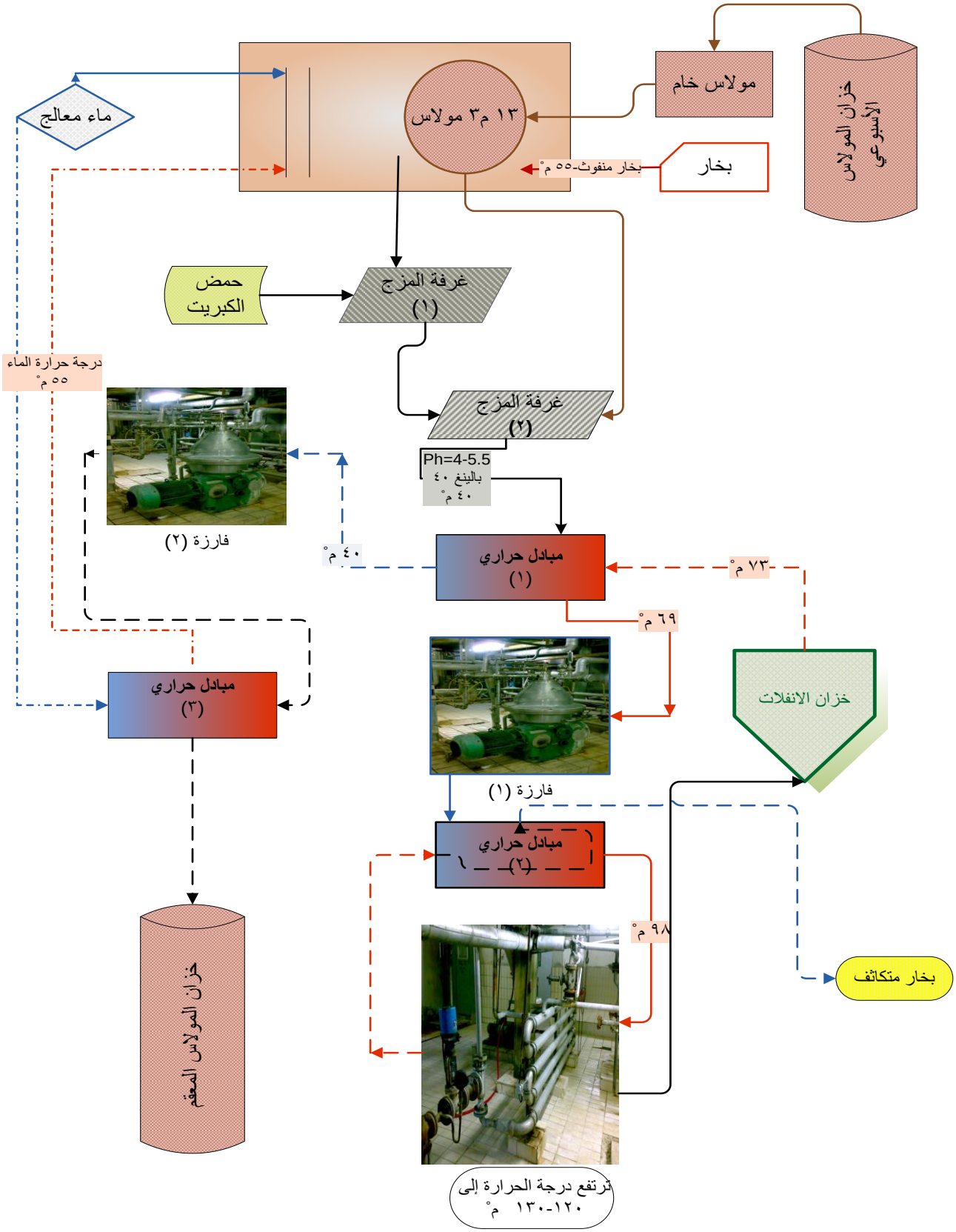
المرحلة الثانية: ترفع درجة الحرارة في أنبوب المكوث إلى 120- 140°م تحت ضغط عن طريق حقن البخار، ثم تبريده في خزان الإفلات (صادق، 2005).

فرز المولاس Molasses centrifugation:

يفرز المولاس الممدد المعقم بوساطة الفارزات لفصل الرواسب المتشكلة في المولاس والمواد العالقة فيه، والتي لو بقيت ستؤثر سلباً في عمل فارزات الخميرة علاوة على خفض المردود وازدياد فرص تلوث المنتج النهائي، ويوضح المخطط (5) معالجة المولاس (باشا وآخرون، 1990).

إغناء المولاس بالمواد المغذية Molasses enrichment:

نظراً لعوز المولاس لبعض العناصر المعدنية الضرورية للخميرة وخاصة عنصري الآزوت والفوسفور، علاوة على بعض عوامل النمو الأخرى، لذلك يجب إضافة بعض المواد المغذية مثل كبريتات الأمونيوم وفوسفات ثنائية الأمونيوم واليوريا لتعويض نقص الآزوت، وتضاف فوسفات أحادية الصوديوم كمصدر للفوسفور، وتضاف أيضاً بعض عوامل النمو مثل النياسين Niacin وفيتامين B_6.



المصدر (شقير، 2011).

شكل (4) معالجة المولاس.

2-2-5-3- المرحلة المخبرية لإنتاج خميرة الخبز Laboratory stage of yeast production:

تُحضر الزرعة النقية في المخبر وفق الخطوات التالية:

اليوم الأول: تُنقل خلايا السلالة الأم النقية، من سطح الآغار المغذي في طبق بتري بوساطة إبرة التلقيح إلى أنابيب اختبار تحوي 10 - 15 مل من وسط مغذٍ شديد التعقيم، وتحضن الأنابيب مدة 16-24 ساعة في حاضنة بدرجة الحرارة 26 - 30°م.

اليوم الثاني: يُنقل 5 مل من كل أنبوب اختبار إلى حوجلة خاصة (فريدل رايخ) سعة 100مل، والتي تحتوي على50 مل من وسط مغذٍ شديد التعقيم، أُضيفت إليه الفيتامينات والمالت، وتُحضن مدة 16-24 ساعة بدرجة حرارة 26 - 30°م.

اليوم الثالث: تُفحص عينات من الحوجلات الأربع تحت المجهر، وبعد التأكد من سلامتها، يُنقل محتوى الحوجلتين إلى حوجلتين بسعة 500 مل وتحضن بالشروط والمدة الزمنية نفسها.

اليوم الرابع: تُنقل محتوى الحوجلة ذات السعة 500 مل إلى حوجلة كارلسبرغ سعة10 ليتر، والتي تحتوي على 6-7 ليتر من الوسط المغذي في شروط شديدة التعقيم، وتحضن في الدرجة 30° م لليوم التالي.

اليوم الخامس: يُنقل محتوى حوجلة كارلسبرغ إلى مخمر سعة 250 ليتر لإكثار السلالة وذلك بدرجة حرارة تخمير 30 °م مدة 10 ساعات، بحيث يُضخ الهواء المعقم مدة 5 دقائق كل ساعتين.

اليوم السادس: يُنقل محتوى المخمر الصغير إلى مخمر أكبر سعة 1 م^3 بالشروط السابقة نفسها من حرارة وتهوية، ويتم الإكثار حتى انخفاض المادة الجافة للوسط المغذي من 7 % إلى 4 %، ثم يُنقل محتوى المخمر إلى خزان الزرعة الأم (صادق،2005).

2-2-5-4- مرحلة الإنتاج التجاري Commercial stage:

1) مرحلة التخمر الكحولي:

تُنقل محتويات المخمر في اليوم السادس إلى خزان البادىء النقي (حجمه 12 م ^{3} والحجم الفعال9 م^3) بعد تجهيزه، غسيل وتعقيم بماءات الصوديوم (3%، 90 °م) ثم يُغلق الخزان ويُعقم بالبخار بالدرجة 121 °م مدة نصف ساعة ويُبرد إلى الدرجة 30 °م ويُنقل إليه الماء والمولاس المعقمان والمواد المغذية الضرورية، وتتم التهوية بعد ثلاث ساعات، حيث يحدث خلالها تخمر لاهوائي ينتج عنه إيتانول بنسبة 3%، ويُشغَّل نظام التبريد والمراقبة ويستمر التخمر 18-20 ساعة وينتج حوالي 225 كغ خميرة بتركيز 30 غ / ليتر ويصبح جاهزاً لنقله إلى خزان الزرعة الأولى.

2) خزان الزرعة الأم الأولى:

حجمه 45 م ^{3} والفعلي 42 م ^{3} مزود بمضخة تدوير عبر مبادل حراري للمحافظة على الحرارة والذي يكون مجهز مسبقاً {غسيله وتعقيمه بمحلول ماءات الصوديوم الساخنة والبخار ثم إضافة المياه اللازمة إليه}، يضاف بعد ذلك المواد المغذية (مولاس، آزوت، فوسفات،..) حسب البرنامج الخاص به مع تشغيل نظام التهوية ويستمر التخمر 17 - 18 ساعة يجري فيها المراقبة الساعية والتحاليل المخبرية اللازمة وينتج 3-3.5 طن خميرة بتركيز 80 - 100 غ/ ليتر ويُنقل بعدها كامل المحتوى إلى خزان الزرعة الثانية.

3) خزان الزرعة الأم الثانية:

حجمه 100 م ^{3} والفعلي 95 م ^{3} مزوَّد بمضخة تدوير عبر مبادل حراري، والذي يكون مجُهز مسبقاً {غسيل وتعقيم بماءات الصوديوم الساخن والبخار ثم إضافة المياه اللازمة إليه} يضاف بعد ذلك المواد المغذية (مولاس، آزوت، فوسفات، وغيرها) حسب البرنامج الخاص به بالطريقة نصف المستمرة، مع تشغيل نظام التهوية ويستمر التخمر 16- 17 ساعة يجري فيها المراقبة الساعية والتحاليل المخبرية اللازمة، وينتج 16 -18 طن خميرة بتركيز 180 - 200 غ/ ليتر، يُنقل بعدها كامل المحتويات إلى

الفارزات، حيث تُفرز وتُغسل ويُرفع تركيزها، ويدعى الناتج المذكور بعد الفرز كريما الزرعة الثانية، وتُخزن في خزانات مبردة خاصة، ثم يُؤخذ من هذه الكريما حجماً يقارب (5 م ^{3}) والذي يحتوي 3 - 3.5 طن خميرة إلى الخزان التجاري.

4) الخزان التجاري:

حجمه 155 م ^{3}، مزود بمضخة تدوير عبر مبادل حراري وبجهاز فرينكس للتهوية، والذي يكون مجهز مسبقاً {غسيل وتعقيم بماءات الصوديوم الساخن والبخار}، وتتم التغذية وفق البرنامج المحدد، ويستمر التخمر 16 - 20 ساعة وفي الساعات الأخيرة تُرفع قيمة الـ pH للتخفيف من كمية المواد المدمصة على سطح خلايا الخميرة، يتم فيها المراقبة الساعية والتحاليل المخبرية اللازمة، وينتج 16- 18 طن خميرة بتركيز 200 - 180 غ/ ليتر خميرة يُنقل بعدها كامل المحتويات إلى الفارزات حيث تُغسل ويُرفع تركيزها إلى 006- 700 غ/ ليتر خميرة (28%) يدعى الناتج المذكور بعد الفرز كريما تجارية ويُخزن في خزانات مبردة، وتُنقل هذه الكريما إلى التصفية، والتي تنتج عنها الخميرة الطرية ومنها إلى آلة التعبئة والتغليف ثم إلى الخزن والتبريد.

2-3-- طاقة الكتلة الحيوية Biomass energy:

تُشكل الطاقة الحيوية واقعاً معاشاً منذ القدم ولو في أبسط أشكالها، حيث لا زالت الطاقة الحيوية التقليدية تُقدم نحو 95 % من احتياجات الطاقة في البلدان النامية فهي مصدر طاقة لحوالي 2.4 مليار شخص (منظمة الأغذية والزراعة، 2008)، وهي الطاقة المستمدة من المواد العضوية بتحويل الكتلة الحيوية للنباتات أو الحيوانات أو أجزائها أو مخلفاتها أو الكائنات الدقيقة سواء كانت بصورة حبوب أو بذور أو ألياف أو عصارة أو بصورة زيوت مثل زيت فول الصويا وزيت النخيل والشحوم الحيوانية والطحالب إلى وقود حيوي بصورة إيتانول حيوي أو زيت ديزل أو غاز حيوي، وعليه يتميز الوقود الحيوي بأنه مصدر طبيعي متجدد للطاقة وغير ملوث للبيئة بالإضافة إلى رخص تكلفته مع إمكانية إنتاجه في أي بقعة من الأرض، ولا يطرح في الجو مزيداً من ثاني أكسيد الكربون، وينقسم الوقود الحيوي إلى ثلاثة أنواع:

1- **الوقود الحيوي السائل:** يكون إما على شكل "**إيتانول حيوي**": وهو سائل كحولي شفاف، لا لون له، طعمه حلو نوعاً ما والمركَّز منه له طعم حارق، وذو رائحة نفاذة يُنتج من تخمير السكريات بفضل الجهاز الإنزيمي التي تملكه الأحياء الدقيقة مثل خميرة *Saccharomyces cerevisiae*، يُستخدم كمصدر للطاقة بديلاً عن البنزين، أو يُمزج مع البنزين بنسب مختلفة لتخفيف التلوث الناتج عن احتراق البنزين في محركات السيارات، ويُنتج من المحاصيل المحتوية على سكريات (الشوندر السكري وقصب السكر والذرة)، والحبوب (القمح والشعير) والدرنات النشوية (البطاطا)، والكتلة الحيوية الليغنوسليلوزية (الخشب والقش والأعشاب)، أو قد يكون على شكل "**زيت ديزل حيوي**" يُنتج إما بمزج الزيت النباتي أو الدهون الحيوانية بالكحول، أو من الزيت النباتي المستخرج من المحاصيل الزيتية أو زيوت الطهي المستعملة (مثل زيت فول الصويا وعباد الشمس) (Timilsina and Ashish, 2010)، ويُعد الإيتانول واحداً من أفضل أنواع الوقود المستخلصة من الكتلة الحيوية.

2- **الوقود الحيوي الصلب:** والذي يتحصل عليه بالحرق المباشر للكتلة الحيوية في شكل خشب أو بقايا النباتات أو روث الحيوانات أو مخلفات الصناعات الزراعية والغذائية، ويستعمل في الطهي والتسخين والتدفئة وتوليد البخار وتوليد الطاقة الكهربائية أو بالحرق غير المباشر لإنتاج الفحم غير أن هذه العملية لها مردود حراري ضئيل.

3- **الوقود الحيوي الغازي:** وينتج من تخمير المادة العضوية النباتية أو الحيوانية والتي ينتج عنها غاز الميتان الذي يمكن تجميعه والاستفادة منه كطاقة بديلة.

ويحتل الوقود الحيوي كمصدر للطاقة المتجددة مرتبة متقدمة من حيث حجم الاستثمارات الموجهة له بالنسبة إلى جملة الاستثمارات الدولية الموجهة للطاقة المتجددة وبنسبة تصل إلى 26% ليحتل بذلك المرتبة الثانية بعد طاقة الرياح (38 %) عام 2006 م، وهو العام الذي شهد نمواً في تلك الاستثمارات الكلية بالطاقة المتجددة بنسبة 43 % عما كانت عليه في العام 2005.م وقد شهدت فترة ما بعد 2005 م وحتى عام 2010 م طفرة ملحوظة في الإنتاج العالمي للوقود الحيوي يتوقع لها الاستمرار على المدى المتوسط والطويل وحتى عام 2030 م (UNEP, 2010).

2-3-1- الدوافع المرتبطة بالتوجه لإنتاج الوقود الحيوي Motivations associated with biofuel production:

شكَّلت العديد من الدوافع الاقتصادية والاجتماعية والبيئية المحرك الرئيسي للتوجه نحو إنتاج الوقود الحيوي، وقد أوضح بيان منظمة الغذاء والزراعة الدوافع الأساسية لتنمية إنتاج الوقود الحيوي لدى أهم البلدان المنتجة له الجدول (6) ولعل أهم هذه الدوافع:

2-3- 1-1 - أمن الطاقة في الحاضر والمستقبل:

تُشكل الرغبة الملحة للدول الصناعية الكبرى والدول المستوردة للنفط في إيجاد مصادر بديله للوقود الأحفوري، تقيها تقلبات سوق النفط العالمي وأسعاره المرتفعة، وتجنبها تحكم الدول المصدرة للنفط والغاز الطبيعي في سوق الطاقة العالمي وبخاصة بلدان الشرق الأوسط غير المستقرة، وقرب نفاد احتياطيات النفط وعدم كفاية المخزون منه للإيفاء بالاحتياجات العالمية المتزايدة من الطاقة أهم الدوافع للبحث عن المصادر البديلة للطاقة، حيث بلغ متوسط استهلاك العالم من النفط الخام أكثر من 80.3 مليون برميل في اليوم الواحد في عام 2010 (OPEC, 2011) أي قرابة 30 مليار برميل من النفط الخام سنويا، وبمقارنتها مع اجمالي احتياطي العالم من النفط الخام 1477 مليار برميل مما يعني نفاد الاحتياطات العالمية من النفط الخام بعد قرابة نصف قرن بافتراض بقاء العالم على نفس مقدار استهلاكه في عام 2010 م مما يهدد أمن الطاقة العالمي، وعليه فإن إيجاد مصدر بديل للنفط، لم يعد اختياراً بقدر ما أصبح هدفاً استراتيجياً تسعى إليه أغلب بلدان العالم وبخاصة المتقدمة والمستوردة للنفط (جلال، 2013).

الجدول (6): الدوافع الأساسية لتنمية إنتاج الوقود الحيوي لدى أهم البلدان المنتجة له.

البلد	تغيرات المناخ	البيئة	أمن الطاقة	التنمية الريفية	الاستثمار والتنمية الزراعية	التقدم التكنولوجي	أخرى
البرازيل	×	×	×		×		×
الصين	×	×	×	×	×		
الهند				×			
كندا	×	×	×	×		×	
اليابان	×	×			×	×	
روسيا	×	×	×	×	×	×	
امريكا	×	×	×	×	×	×	
الاتحاد الأوروبي	×		×	×	×	×	

المصدر (جلال،2013).

2-3-1-2 - مواجهة المشكلات البيئية والتغيُّرات المناخية:

تظهر الميزة الرئيسية للوقود الحيوي في أنه ذو طبيعة كربونية، فغاز ثاني أوكسيد الكربون المنبعث من احتراق الوقود الحيوي يستخلص من الجو بواسطة النباتات مما يعني عدم وجود أي انبعاث لغازات الاحتباس الحراري كما يخفض الوقود الحيوي انبعاث المركبات العضوية الطيارة، حيث أن إضافة الإيتانول للجازولين يشبع الوقود بالأوكسجين، مما يجعله يحترق بشكل كامل إضافة لعدم الحاجة لإضافة الرصاص إلى الإيتانول، والوقود الحيوي يتحلل بيولوجياً وغير سام وبالتالي يحتل موضعاً هاماً في حماية البيئة حيث يفترض أن يحقق إمكانية خفض دورة الانبعاثات ذات الأثر السلبي في البيئة بتكلفة أقل من تلك المرتبطة بخيارات أخرى مثل الطاقة الشمسية، وبفاعلية أكبر مقارنة بالوقود الأحفوري، وتناولت عديد من الدراسات إمكانات مختلف مسارات الوقود الحيوي في الحد من انبعاثات غازات الاحتباس الحراري الناجمة عن الوقود الأحفوري باستخدام تقنيات تحليل دورة الحياة ويُبيِّن الجدول (7) اجماع هذه الدراسات على أن الوقود الحيوي وبخاصة إيتانول قصب السكر (Goldemberg, 2008) والجيل الثاني من الوقود الحيوي، يمثل أدوات مفيدة للحد من انبعاث هذه الغازات عندما تحل محل الطاقة المعتمدة على الوقود الأحفوري، فالغازات المنبعثة من احتراقه في محركات السيارات أقل من كمية الغازات المنبعثة من احتراق البنزين أو الديزل النفطي في المحركات نفسها، فمثلاً يولد احتراق الديزل المصنوع من زيت نبات الجاتروفا خُمس كمية ثاني أوكسيد الكربون المنبعثة من احتراق الديزل الأحفوري وهذا يعني اختزال 80 % من الأضرار التي يسببها الديزل النفطي للبيئة، علاوة على أن الوقود الحيوي يستحصل عليه من المخلفات الزراعية وبقايا الحيوانات.

الجدول (7): النسب المئوية للتخفيضات في الانبعاثات حسب نوع الوقود الحيوي*.

الوقود الحيوي	التخفيضات في الانبعاثات (بالنسبة المئوية)	الوقود الحيوي	التخفيضات في الانبعاثات (بالنسبة المئوية)
إيتانول قصب السكر	105-65	الديزل الحيوي من زيت النخيل	75-30
إيتانول القمح	90-5-	الديزل الحيوي من الجاتروفا	100- 40
إيتانول الذرة	55-20-	الديزل الحيوي من فول الصويا	70-52
إيتانول الشوندر السكري	60-30	الديزل الخشبي السلولوزي	120 - 5
ديزل حيوي من بذور اللفت	80-20	الإيتانول الخشبي السلولوزي	112 - 45

المصدر: (FAO /HLPE, 2013)، * تعني الارقام السلبية زيادات صافية في انبعاثات غازات الاحتباس الحراري.

2-3-1-3- النهوض بالقطاع الزراعي وتنمية المجتمعات الريفية:

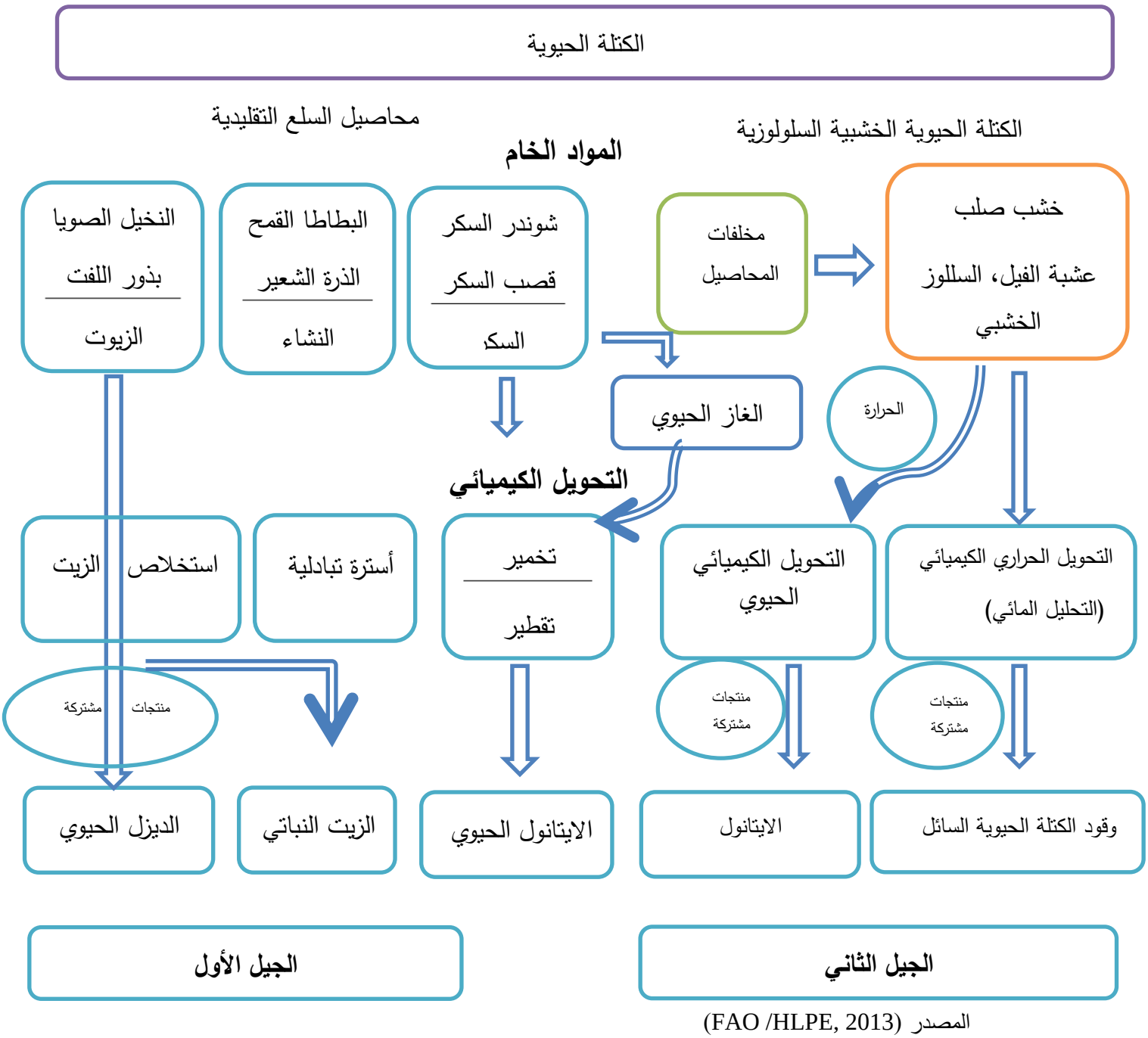
يُفترض أن يساهم الترويج لإنتاج الوقود الحيوي في إعادة صوغ هياكل القطاعات الزراعية من حيث إمدادات المواد الأولية الزراعية اللازمة لإنتاجه ونمو فرص التشغيل وتوليد الدخول للعاملين في هذا المجال وتجنّب هجر الأراضي والهجرة إلى المدن، مع إمكان تأمين الحصول على الطاقة المستدامة من خلال الإنتاج والاستخدام المحلي للوقود الحيوي على نطاق المجتمعات الريفية.

2-3-2- الأجيال المتتابعة من الوقود الحيوي Generations of biofuel:

يُصنف إنتاج الوقود الحيوي في إطار التطوير المستمر إلى أربعة أجيال، ويشكل الجيلان الأول والثاني 90 % من الإنتاج الكلي للوقود الحيوي المتداول حتى عام 2010 م، حيث دخل بالفعل الجيل الأول منها طور الإنتاج الاقتصادي الواسع ويُساهم في الشطر الأكبر من التجارة الدولية للوقود الحيوي ويشير الجيل الأول إلى الإيتانول الذي يُستخدم في إنتاجه المحاصيل الغنية بالسكر مثل الشوندر السكري وقصب السكر والذرة الرفيعة السكرية والمحاصيل الغنية بالنشاء (مثل الذرة والقمح والبطاطا والكاسافا)

(الشكل 5)، وكما يشير إلى الديزل الحيوي المصنّع من محاصيل البذور الزيتية (مثل فول الصويا وعباد الشمس وبذور اللفت والنخيل والخروع) أو الشحوم الحيوانية فضلاً عن الزيت النباتي الخالص (Fischer *et al*., 2010; HLPE, 2013).

وأما وقود الجيل الثاني فهو يلحق الجيل الأول في خطوات بطيئة على نطاق الأسواق، وهو الوقود الذي يُصنع من الكتلة الحيوية غير الصالحة للأكل أو الخشبية السيليلوزية والطحالب، وتتمثل نواتجه عموماً في الإيتانول المصنّع من المواد الخشبية السلولوزية، والغاز الطبيعي المخلّق بيولوجياً (منظمة الأغذية والزراعة، 2008)، وتتمثل المواد الأوّلية الخشبية السيليلوزية النمطية في المنتجات الزراعية الثانوية المستخدمة مثل حبوب العلف، والقشور، والسوق، وتفل القصب والمخلفات الحراجية مثل النباتات المستبعدة نتيجة عمليات التفريد، وقمم الأشجار والأغصان والأعشاب النجيلية المعمّرة، مثل عشبة الفيل وحشيشة الكلأ والشجيرات قصيرة الدورة مثل الصفصاف والحور ومخلفات الصرف الصحي، وتُطلق أيضاً في بعض الأحيان تسمية الجيل الثاني، حتى وإن استخدمت التكنولوجيا التقليدية، على أنواع الوقود الحيوي التي تعتمد على مواد أوّلية لا تتنافس مع المحاصيل على الأراضي عالية الجودة أو تنمو في ظروف الإجهاد المائي مثل الباربيدوس، وتتجه العديد من استثمارات البحوث والتطوير في الدول المتقدمة وبعض الدول الصاعدة إلى الجيل الثاني، ورغم تأخر مقومات ترويجه اقتصادياً فمن المتوقع أن يساهم هذا الجيل في العرض العالمي للطاقة بدءاً من عام 2020 م أما الجيلان الثالث والرابع فهي لا تزال قيد التجريب، وتعتمد على التطور المستمر في مجالات الهندسة الوراثية والكيمياء الحيوية بغرض تلافي مثالب الأجيال السابقة المتعلقة بنمط تخصيص الموارد وبالتكلفة الاقتصادية والاجتماعية لهذا التخصيص (HLPE, 2013).



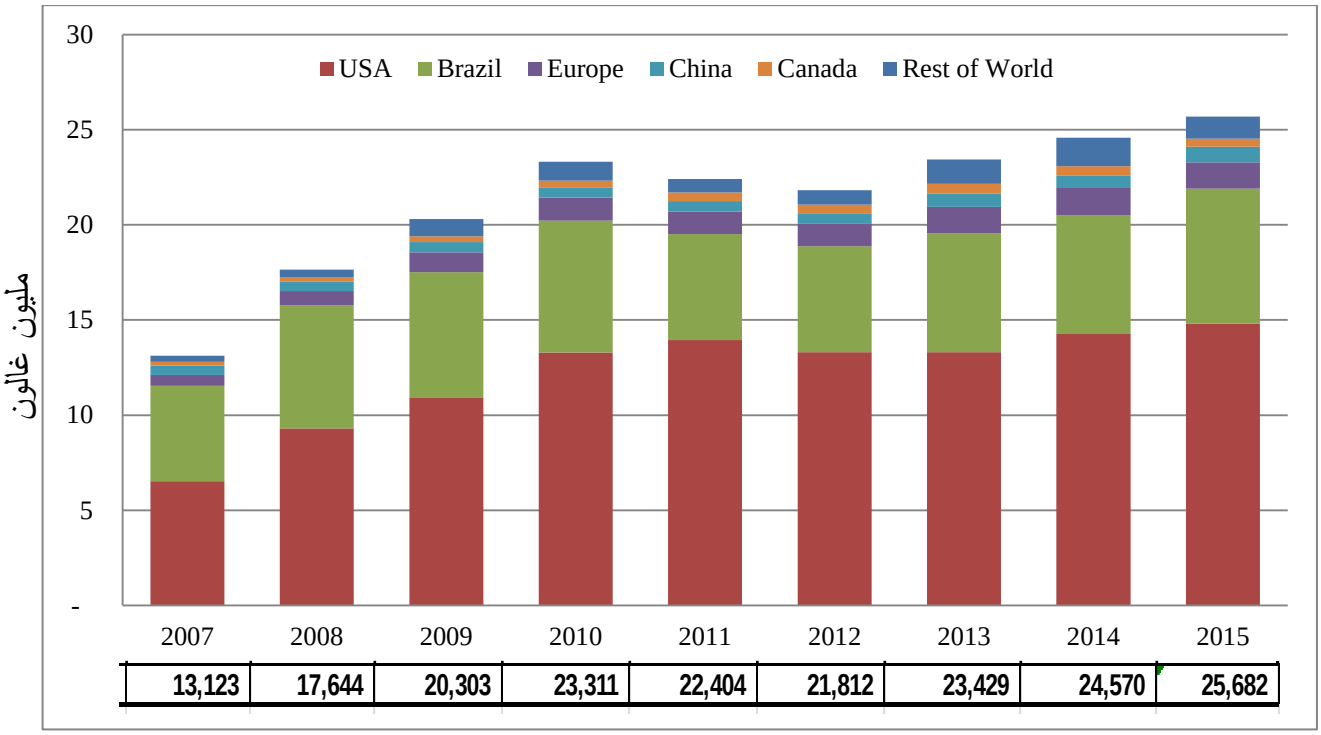
المصدر (FAO /HLPE, 2013)

شكل (5) مسارات إنتاج الجيل الأول والثاني من الوقود الحيوي.

بدأ في تشريعات الولايات المتحدة استخدام مصطلح الوقود الحيوي المتطور، ووفقاً للتعريف الذي حددته وكالة حماية البيئة فإن هذا المصطلح يشير إلى أي "وقود متجدد غير الإيتانول المشتق من نشاء الذرة، وتقل دورة حياة انبعاثاته بنسبة 50% مقارنة بالبنزين أو الديزل الذي يحل محله، وعليه فإن إيتانول قصب

السكر البرازيلي يصنّف ضمن الوقود الحيوي المتطور في الولايات المتحدة رغم كونه من أنواع وقود الجيل الأول الجدول (7).

حظي إنتاج الوقود الحيوي السائل بالكثير من الاهتمام في السنوات الأخيرة، وذلك لإمكانية استعماله في النقل، حيث ازداد الإنتاج العالمي من الإيتانول الحيوي من 13.1 مليون غالون في عام 2007 م إلى 25.6 مليون غالون عام 2015 م كما هو موضح في الشكل (6)، ويُنتج على شكلين هما: الإيتانول الحيوي وزيت الديزل الحيوي، وتتوقع الوكالة الدولية للطاقة أن الوقود الحيوي السائل سيُشكل حوالي 27% من الوقود المستعمل في عملية النقل بحلول عام 2050 م، وأن الاستعمال المتوقع منه مستقبلاً سيجنب سنوياً حوالي 2.1 مليون طن من انبعاثات غاز ثنائي أكسيد الكربون (اليماني، 2009)، ويتركز حوالي 90 % من إنتاج الإيتانول الحيوي في البرازيل والولايات المتحدة الأمريكية، وينتج في البرازيل بالاعتماد على قصب السكر، في حين تعتمد الولايات المتحدة الأمريكية في إنتاجه على حبوب الذرة، نظراً لكونها المُنتج الأول للذرة في العالم (Timilsina and Ashish, 2010)، ويتميز الإيتانول الحيوي بانبعاثات غازية أقل ضرراً من انبعاثات الوقود الأحفوري، ويحتوي اللتر الواحد من الإيتانول على 66 % من الطاقة التي يوفرها اللتر من البترول (منظمة الأغذية والزراعة، 2008)، ويمزج الإيتانول عادةً مع البترول بهدف تحسين أدائه، حيث يستخدم في السويد الإيتانول E85 والذي يحتوي على85 % إيتانول و 15% بنزين تقليدي (Wang *et al.*, 2007) ، وقد حدد الإتحاد الأوروبي في العام 2007 م هدفاً ملزماً يقضي بأن يشكل الوقود الحيوي 10 % من إجمالي وقود النقل بحلول سنة 2020 م، وأقر مجلس العموم الكندي عام 2008 م قانوناً يقضي بأن يحتوي البنزين المُباع في كندا 5 % من الوقود الحيوي.



المصدر (Renewable Fuels Association, 2016).

شكل (6) مخطط الإنتاج العالمي للإيتانول الحيوي.

2-3-3- الوقود الحيوي والأمن الغذائي Biofuel and food security:

يُعتبر الأمن الغذائي أحد الأهداف الرئيسية لجميع الدول والحكومات، والتي تسعى من خلال سياساتها الإقتصادية المتعددة لمحاولة تحقيقه بما يضمن أمنها واستقرارها الاجتماعي وحتى الاقتصادي، وعلى غرار الأمن الاجتماعي لم يلبث وأن تحول أمن الطاقة إلى أحد الأهداف الرئيسية التي تسعى لها العديد من الدول خصوصاً المتقدمة منها انطلاقاً من رؤيتها للطاقة كعنصر رئيسي في عملية النمو الاقتصادي المتواصل، وهو ما تجسد في سعيها لإيجاد بديل للطاقة الأحفورية التقليدية مرتفعة الأسعار ممثلا في الطاقة الحيوية على شكل وقود حيوي بديل للوقود الأحفوري التقليدي في عملية النقل، بما يضمن انخفاض التكاليف من جهة وضمان ديناميكية النمو الإقتصادي على المدى الطويل من جهة أخرى، وفي تشرين الأول من عام 2011 م أوصت لجنة الأمم المتحدة للأمن الغذائي العالمي باستعراض سياسات

الوقود الحيوي، حسب الاقتضاء وعند اللزوم، وفقاً لتقييمات متوازنة مستندة إلى أدلة علمية تتعلق بالفرص والتحديات التي قد تمثلها بالنسبة للأمن الغذائي، ولكي يكون من الممكن إنتاج الوقود الحيوي، وحيثما أمكن القيام بذلك من النواحي الاجتماعية والاقتصادية والبيئية، ووفقاً لذلك طلبت لجنة الأمن الغذائي العالمي إلى فريق الخبراء رفيع المستوى إجراء تحليل مقارن يستند إلى أدلة علمية للآثار الإيجابية والسلبية للوقود الحيوي على الأمن الغذائي، مع مراعاة العمل الذي تقوم به منظمة الأغذية والزراعة والشراكة العالمية بشأن الطاقة الحيوية (FAO / HLPE, 2013).

2-3-4- الوقود الحيوي وأسعار الغذاء Biofuel and food prices:

شكَّل الوقود الحيوي نقطة التلاقي الرئيسية بين أسواق الأغذية وأسواق الطاقة من خلال استخدام مواد أولية مشتركة (المحاصيل المرنة) وتتجلى أهم تأثيرات هذه العلاقة على الأسعار، حيث يرى عديد من الباحثين أن استخدام المحاصيل الزراعية في إنتاج الوقود الحيوي يؤدي إلى تقليص الكميات المتاحة من الأغذية مما يتسبب في ارتفاع أسعار الغذاء ويتسبب في البحث عن بدائل للاستهلاك ولكن يرى آخرون أثراً إيجابياً على المدى البعيد لزيادة الطلب على الوقود الحيوي الذي من شأنه زيادة الطلب على المحاصيل الزراعية مما يشجع المزارعين على زيادة الإنتاج وبالتالي زيادة عرض المحاصيل في السوق مما يحقق التوازن بين العرض والطلب ويساعد في ضمان الأمن الغذائي ويمنع حصول ارتفاع في أسعار هذه المحاصيل وتقتصر زيادات الأسعار على ارتفاع هامشي في تكاليف الإنتاج المرتبطة بتحقيق غلات أكبر أو زراعة أراضي إضافية (Goldemberg *et al*., 2004)، حيث أن زيادة الطلب على الوقود يسبب زيادة في إنتاج المحاصيل المشتركة كالمحاصيل السكرية والزيتية والتي يمكن توجيهها إما إلى أسواق الأغذية أو إلى أسواق الوقود حسب ميزان الأسعار، وعلى أية حال فإن الخلاف على تأثير الوقود على أسعار الغذاء لا يزال يثير جدلاً واسعاً وتختلف وجهات النظر بين الدراسات الاقتصادية المطروحة

بهذا الشأن، خاصةً وجود عديد من العوامل المؤثرة في العرض والطلب على الغذاء وبالتالي تؤثر في أسعار المواد الغذائية، وأشارت عديد من الدراسات والتقارير إلى صعوبة فصل هذه العوامل عن بعضها وبالتالي من الصعب التحديد الكمي الدقيق لمساهمة الوقود الحيوي في ارتفاع أسعار السلع الزراعية الأساسية، ولكن في حال تساوت جميع العوامل المؤثرة فان زيادة الطلب على الوقود الحيوي، إذا لم يترافق بزيادة في إنتاج الحاصلات الزراعية، سوف يسبب زيادة في أسعار السلع الغذائية وخاصة إذا استخدمت المحاصيل الغذائية لإنتاج الوقود، وهناك تباين شديد في التقديرات المرتبطة بمدى مساهمته في رفع أسعار الغذاء ففي العام 2008 م قدرت وزارة الزراعة الأمريكية تأثيره بمقدار 3 % في حين قُدرت بـ 30% حسب المعهد الدولي لبحوث السياسات الغذائية ومن المتوقع أن استمرار تزايد الطلب على المحاصيل الغذائية لإنتاج الوقود الحيوي السائل أن يسهم في ارتفاع أسعار السلع الغذائية بنسبة تراوح ما بين 12 % و15% حتى عام2017 م، وإن لاختلاف نوع الوقود الحيوي المطلوب أثر واضح على الأسعار فزيادة الطلب على الإيتانول الحيوي له أثر مختلف عن زيادة الطلب على الديزل الحيوي بل وتتشعب العلاقة إلى أعمق من ذلك لاختلاف أثر زيادة الطلب على الإيتانول المنتج من الذرة عن المنتج من قصب السكر، حيث أن كل محصول يدخل في سلسلة غذائية وصناعية واقتصادية مختلفة وبالتالي له أثاره الخاصة عند دراسة العوامل والعلاقات الإقتصادية المحددة للأسعار، ونظراً للتفاعلات المتبادلة بين أسواق الطاقة الحيوية وأسواق الغذاء وبالتالي تداخل سياسات الأمن الغذائي وسياسات الوقود الحيوي، فقد أوصى فريق الخبراء رفيع المستوى بضرورة إعطاء الأولوية للغذاء عند تصميم أية سياسة للوقود الحيوي، حيث أن الاستراتيجيات الوطنية المتوازنة والتنسيق الدولي بين الدول أصحاب المصلحة عند وضع السياسات الطاقية والزراعية والغذائية يمكن أن يضبط انفلات الطلب على الوقود الحيوي المدفوع من قبل قوى السوق (FAO /HLPE, 2011)، على أية حال يلعب ارتفاع أسعار الوقود الحيوي

الأحفوري دوراً حاسماً، حيث يسبب في زيادة تنافسية إيتانول الذرة وقصب السكر بالمقارنة مع البنزين الإحفوري ويفتح سوقاً غير محدودة للوقود الحيوي.

2-5-3- الوقود الحيوي والزراعة Biofuel and agriculture :

يرتبط الوقود الحيوي ارتباطاً وثيقاً بالقطاع الزراعي وخاصة الجيل الأول منه، حيث نجد في الإتحاد الأوروبي أن القمح يحتل المرتبة الأولى في المواد الزراعية الوسيطة المستعملة في إنتاج الإيتانول الحيوي بنسبة 70 %، يليه الشعير بنسبة 15 % فالذرة بنسبة 10% وأخيراً الجاودار بنسبة 5%، أما فيما يخص إنتاج زيت الديزل الحيوي فنجد أن بذور اللفت تحتل المرتبة الأولى في المواد الزراعية الوسيطة المستعملة في إنتاجه بنسبة 79%، ثم فول الصويا بنسبة 18% فعباد الشمس بنسبة 3% (Amela, 2010)، أما في الولايات المتحدة الأمريكية فنجد أن الإيتانول الحيوي ينتج بنسبة 97 % من الذرة والباقي من مواد زراعية وسيطة أخرى، في حين أن زيت الديزل الحيوي ينتج من فول الصويا بنسبة 82 %، ويليه زيت الكانولا بنسبة 13% والباقي من زيوت أخرى، أما في البرازيل فإن إنتاج الإيتانول الحيوي فيتركز بالكامل على قصب السكر في حين يبقى إنتاجها من زيت الديزل الحيوي ضعيف جداً.

ونتيجة لذلك الترابط فإنه وباستثناء الحالات التي يتم فيها إنتاج الوقود الحيوي من المخلفات الزراعية والنفايات فإن إنتاج الوقود الحيوي يُشكل قوة محفزة على استصلاح الأراضي القاحلة والصحاري، وفي دفع عجلة الإنتاج الزراعي والتوسع فيه أفقياً ورأسياً، وبشكل لا يستبعد معه حدوث طفرة نوعية سواء في المكننة الزراعية المستخدمة أو مساحات الأراضي المستغلة أو طرائق الزراعة السائدة، ومن ثم فإن تشجيع صناعة الوقود الحيوي واستعماله في عملية النقل ينعكس بالضرورة على تطوير القطاع الزراعي وزيادة الإهتمام به، لكن زيادة الطلب على الوقود الحيوي تواجه مشكلة رئيسية متمثلة في أن الطلب على الغذاء ليس له مستوى محدد، وإنما يتزايد بشكل مستمر مع تزايد عدد السكان من جهة، ولارتفاع معدلات

النمو التي تسمح بتحسن مستويات المعيشة من جهة أخرى، وبالتالي فظهور الطلب على المواد الزراعية لإنتاج الوقود الحيوي وارتفاعه المستمر يزيد من حجم الطلب الكلي عليها وهو ما من شأنه زيادة الإضطرابات في أسواق المواد الزراعية العالمية (FAO /HLPE, 2013).

برزت أهمية العديد من المحاصيل التي تستخدم في إنتاج الوقود الحيوي وتزرع في مساحات غير ملائمة للمحاصيل الغذائية، بشكل لا تنافس المحاصيل الغذائية على الأراضي (Prieler *et al*., 2013)، ولا بدَّ عند تحديد أثر الوقود الحيوي على استخدام الأراضي الزراعية المتاحة من الأخذ بعين الإعتبار أحد أهم مبررات إنتاج الوقود الحيوي وهو المنافسة على احتجاز الكربون وبالتالي تخفيف آثار تغيُّر المناخ، وركزت عديد من الدراسات إلى الدافع المحفز المحوري التي يُشكلها إنتاج الوقود الحيوي في استثمار الأراضي في بلدان مثل إفريقيا.

2-3-6- الوقود الحيوي والمجتمع Biofuel and society:

يُتيح الوقود الحيوي فرصاً مهمة جديدة لزيادة الدخل وخلق فرص العمل وزيادة مكاسب المزارعين وإلى دعم وتنشيط صناعات كثيرة مرتبطة بالزراعة، ومنها صناعة الأسمدة والمبيدات وآليات نقل وتخزين الغلال، بالإضافة لتوفير رأس المال المطلوب، والتكنولوجيا الضرورية لقطاع الزراعة في البلدان النامية، وتظهر الآثار الإيجابية لإنتاج الوقود الحيوي في البلدان النامية التي يغلب عليها طابع ريفي كبير وحيث تقل فيها أهمية وقود النقل ويعيش أغلبية فقراء الريف دون الحصول على الطاقة. ويُساهم في دعم خطط التنمية المستدامة في البلدان النامية التي لا تزال في طور صياغة سياسات للوقود الحيوي، في حين وصل العديد من الاستثمارات والمبادرات إلى مراحل مختلفة من التنفيذ، وتُشكل البرازيل استثناءاً لما تملكه من تاريخ يصل إلى 40 عاماً في إنتاج الإيتانول من قصب السكر وعقد من الزمن لبرنامجها الطموح لإنتاج الديزل الحيوي الذي هدف إلى تحقيق تنمية ريفية على أساس قطاع الزراعة الأساسية (الشكل 7)

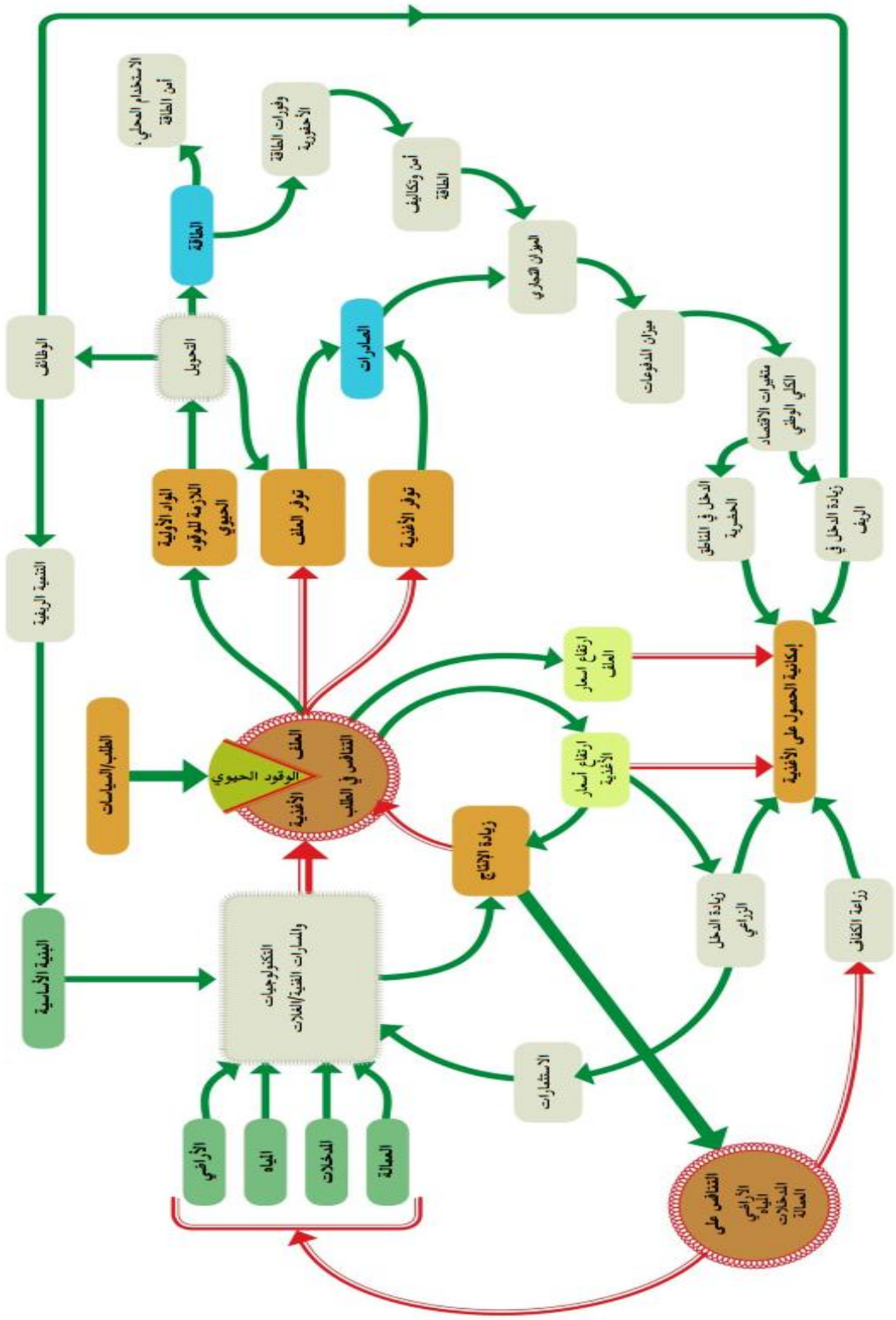
مستثمراً كميات هائلة من الموارد والطاقات لإبداعية ولكن أكثر من استفاد من هذا البرنامج شرائح المزارعين التي كانت على أعلى مستوى من التنظيم (FAO /HLPE, 2013).

2-3-7- ديناميكية التخمر Dynamics of fermentation :

تمرُ الخلايا في ثلاثة أدوار، حيث يبدأ الدور الأول من وقت إضافة البادئ إلى الوسط المغذي، حيث تبدأ الخلايا بالتكاثر (التبرعم)، وتتزايد أعدادها وعملية التخمر الكحولي تكون بطيئة وتتسرع عند انتهاء عملية التكاثر وبدء الدور الثاني.

الدور الثاني: وفيه تتم عملية التخمر الكحولي بفعالية عالية، وتتباطئ عملية التكاثر، ولا تنخفض فعالية التخمر الكحولي إلا في حالة انخفاض كمية السكر في الوسط المغذي، أو ارتفاع نسبة الكحول ونواتج التخمر إلى مستويات تحد من نشاط الخلايا.

الدور الثالث: يتم فيه استكمال تحول ما تبقى من السكر في الوسط المغذي إلى كحول إيتيلي، ولكن ببطء، ولكن في الظروف الصناعية، حيث تحضر الخميرة بشكل مسبق فيبدأ التخمر الكحولي في الخزانات مباشرةً، دون ملاحظة الدور الأول (صادق،2005).



المصدر (FAO /HLPE, 2013).

شكل (7) الآثار وردود الأفعال الرئيسية في نُظم الأغذية والزراعة والطاقة بعد ظهور الطلب على الوقود الحيوي.

الفصل الثالث

مواد وطرائق البحث

Materials and Methods

3- مواد وطرائق البحث Materials and Methods:

3-1- دراسة تركيب عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري:

حُصدت سوق الذرة البيضاء السكرية الخضراء في بداية مرحلة نضج الحبوب خلال شهري آب وآيلول، بعد 110 أيام من تاريخ الزراعة، واستخلصت العصارة السكرية باستخدام عصارة ميكانيكية ذات ثلاث أسطوانات، محلية الصنع، وفق مخطط العمل الشكل (9) ورُشِح العصير الناتج للتخلص من الأجزاء الصلبة، وحُللت العصارة بتقدير نسبة المادة الجافة (Brix) باستخدام جهاز Quick- Brix 60 وفق طريقة ICUMSA رقم :GS4-13(1994)، ونسبة الرطوبة باستخدام جهاز تقدير الرطوبة MA 35 من شركة Sartorius وقُدرت نسبة السكروز والغلوكوز والفركتوز بواسطة جهاز الاستشراب عالي الأداء (HPLC) وباستخدام العمود NH_2 والكاشف Refractive Index Detector (RI)، وفق طريقة ICUMSA رقم GS4/7-1(1994) حسب (Bartens, 2005)، وحُددت نسبة النتروجين والبروتين وفق طريقة كلداهل Kieledahl حسب Jaber وآخرون (2009) ونسبة الرماد وفق طريقة ICUMSA رقم (2000) : GS3/3/4/7/8-1 (Bartens, 2005)، وقُدرت نسبة بعض العناصر المعدنية Ca, P, Na, Fe, Mn, Zn, Cu باستخدام جهاز الامتصاص الذري (Kim *et al*, 2006). قُورن تركيب عصارة الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري بعد تمديده بالماء المقطر إلى درجة بريكس مساوية لدرجة بريكس عصارة الذرة (18%)، وباستخدام العلاقة الرياضية $m_1 . Bx_1 = m_2 . Bx_2$، حيث m_1 يرمز إلى كمية المولاس المراد تمديدها بالكيلو غرام، وBx_1 المادة الجافة (البريكس) قبل التمديد (%)، m_2 كمية المولاس الممدد بالكيلو غرام، وBx_2 المادة الجافة (البريكس) بعد التمديد (%) وتكون كمية الماء الواجب إضافتها m_2-m_1 (صادق، 2005). مُددت عصارة الذرة والمولاس بالماء المقطر حتى تركيز سكر أولي 50غ/ ليتر وذلك باستخدام العلاقة $C_1 . V_1= C_2 .V_2$، حيث C_1 يرمز

لتركيز السكر في عصارة الذرة أو المولاس (الممدد إلى درجة بريكس 18 %)، وC_2 تركيز السكر المطلوب للتجربة، وهو 50 غ/ ليتر و V_1 الحجم قبل التمديد و V_2 حجم الركيزة المطلوب لإجراء التجربة وباستخدام هذه العلاقة تم حساب حجم العصارة أو المولاس V_1 المطلوب وأكمل الحجم بالماء المقطر حتى الحجم النهائي V_2.

3-2- حلمهة الركيزة Hydrolysis:

أُجريت حلمهة حمضية للسكريات بإضافة 1 مل من حمض كلور الماء المركز(36 %) إلى 5 مل من العصارة أو المولاس، وسُخن المزيج حتى الغليان مدة دقيقة واحدة، وتُركت تبرد إلى درجة حرارة الغرفة وعُدلت الحموضة باستخدام محلول هيدروكسيد الصوديوم 1 نظامي ثم أجريت تخفيفات من العصارة، حيث يكون تركيز السكر في البداية وقبل التخمير عالٍ (Sheoran *et al*., 1998).

3-3- تقدير السكريات الكلية Estimation total sugar:

قُدرت السكريات الكلية قبل التعقيم وفي نهاية التخمر باستخدام طريقة DNSA (Dinitro salicylic Acid) حسب (Miller, 1959)، وذلك بعد إجراء الحلمهة الحمضية للسكريات ورُسم منحني قياسي للامتصاصية من سلسلة تخفيفات لمحلول الغلوكوز، وذلك بإضافة 3 مل من محلول DNSA القلوي (يحوي 10 غ من حمض Dinitrosalicylic و 0.5 غ من سلفيت الصوديوم و 10 غ من هيدروكسيد الصوديوم في 1 ليتر ماء مقطر) إلى 3 مل من الركيزة بعد الحلمهة في أنبوب 15 مل، ومُزجت جيداً على رجاجة الأنابيب Vortex ثم سُخنت حتى الغليان مدة 5 دقائق وأضيف لها 1 مل من محلول طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم 40 % (يُحضر بإذابة 40 غ من الطرطرات في 100 مل ماء مقطر)، ومزجت جيداً ثم نُقلت إلى حمام مائي بدرجة حرارة الغرفة، حيث تقوم السكريات المرجعة والتي تحتوي مجموعة كربونيل حرة بارجاع 3, 5 dinitrosaliycilic acid إلى 3-Amino, 5- nitrosaliycilic

acid ذو اللون البني المحمر، والذي يُقاس شدته باستخدام جهاز المطياف الضوئي على طول موجة 540 نانومتر، وتختلف درجة اللون باختلاف تركيز السكريات في العينة.

3-4- ضبط الحموضة وإضافة مانع الرغوة pH Adjustment and Anti Foam addition

عُدلت حموضة العصارة باستخدام حمض كلور الماء وهيدروكسيد الصوديوم (1 نظامي) حتى الوصول إلى رقم الحموضة المدروس، وأضيف مانع الرغوة (مركب من استيرات الحموض الدسمة، على شكل مركزات تُمدد بالماء وتُشكل مستحلب لايُثبط نمو الخميرة، ويُستهلك من قبلها وليس له تأثير على تركيب الوسط).

3-5- تعقيم الوسط Sterilization:

عُقمت العصارة المعدَّلة بالأوتوكلاف عند الدرجة 121° م مدة 20 دقيقة، وبُردت إلى الدرجة 30° م ثم لُقحت بالبادئ (الخميرة) في ظروف عقيمة ضمن غرفة الزرع الجرثومي.

3-6- البادئ Starter:

3-6-1- إنتاج خميرة الخباز:

استخدمت ثلاث سلالات من خميرة *S. cerevisiae* والمستوردة من قبل المؤسسة العامة للسكر، سلالتان من مصر رُمزت بـ (E1, E2) وسلالة من ايران (I)، فُحصت مجهرياً لتحري تلوثها بخلايا غريبة وحساب نسبة الخلايا الميتة (Camacho- Ruiz *et al*., 2003; Painting and Kirsop, 1990)، ودُرست حيوية هذه السلالات باختبار عدد الوحدات المشكِّلة لمستعمرات (C.F.U) وقوة رفع العجين وفق (صادق وحناوي، 2010)، وحُضرت عزلات مفردة نقية منها على وسط الزرع بطاطا دكستروز آغار PDA (الحاوي 200 غ/ ليتر بطاطا و20 غ/ ليتر دكستروز و17 غ/ ليتر آغار) وتم التعرف على مستعمرات الخميرة النامية وتحديد صفاتها (حجم ولون وشكل ولمعان المستعمرات، وطبيعة الحافة وطبيعة المستعمرة سطحية أو عميقة) كما وصفت الخلايا مجهرياً حسب الشكل وطبيعة البرعمة وفق

(Barnett, 2003)، وغُربلت هذه السلالات وفقاً لقدرتها على إنتاج الكتلة الحيوية وذلك بتنميتها في ظروف عقيمة على وسط YPD السائل المعقَّم (الحاوي على 10 غ/ ليتر مستخلص خميرة و20غ/ ليتر غلوكوز و20 غ/ ليتر ببتون)، ذو pH = 5، وحُضنت في الهزازة الرحوية على حرارة 30°م وسرعة دوران 250 دورة / دقيقة مدة 24 ساعة.

3-6- 2- لإنتاج الإيتانول الحيوي:

استخدمت سلالة معزولة محلياً، منمطة، رمزت بـ BR1، والتي أبدت تفوقاً في الإنتاجية والمردود من الإيتانول، حُصل عليها من الباحثة نقشو في الهيئة العامة للتقانة الحيوية، مخبر الأحياء الدقيقة.

3-6- 3- نسبة اللقاح Inoculum size:

لإكثار الخميرة لُقح وسط النمو بـ 1 غ/ ليتر من البادئ المنتخب (E2)، وذلك بعد عزل مستعمرة نقية من الخميرة وتنشيطها على وسط YPD السائل مدة 24 ساعة، وبعدها جُمعت خلايا الخميرة بالتثفيل على سرعة g× 5000 مدة 15 دقيقة، وقُدرت الرطوبة ومتوسط عدد خلايا الخميرة في الغرام باستخدام شريحة العد، وكان متوسط الرطوبة 67 % ومتوسط عدد خلايا الخميرة 0.36×10^{10} خلية / مل، أما بالنسبة لإنتاج الإيتانول نُشطت سلالة البادئ BR1 على وسط YPD السائل مدة 24 ساعة، وعُدت الخلايا المتشكلة باستخدام شريحة العد وكان متوسط عدد الخلايا 1×10^{7} خلية / مل ولُقح وسط التخمير وفق نسب الدراسة في تصميم التجربة (1، 3، 5 %) من حجم وسط التخمير.

3-7- المنحني القياسي لمحلول الغلوكوز Glucose standard curve:

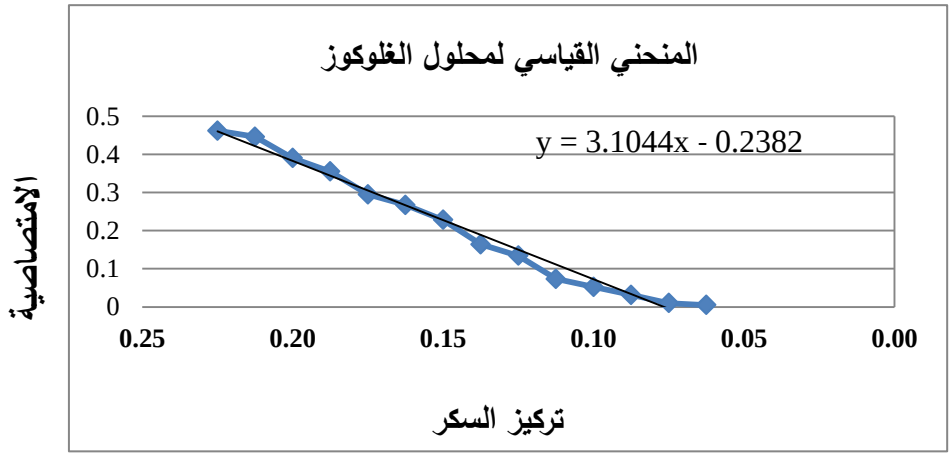
حُضرت تراكيز متدرجة من الغلوكوز بدءاً من محلول أم بتركيز 1غ/ ليتر، وقِيسَت الامتصاصية باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer موديل U-2900 من شركة HITACHI اليابانية) على طول موجة 540 نانومتر مع استخدام محلول شاهد (Blank) يحوي جميع مكونات التحليل عدا الغلوكوز(الجدول8)، ورُسم المنحني القياسي لقيم الامتصاصية مقابل تركيز الغلوكوز بواقع ثلاث مكررات

لكل تركيز (الشكل 8)، وأُستخدم تحليل التباين ANOVA لدراسة وجود فروق معنوية بين متوسطات قيم الامتصاصية للتراكيز المدروسة على مستوى ثقة 99 %، وبيَّنت النتائج وجود فروق معنوية بين متوسطات قيم الامتصاصية حيث كانت قيمة p =0.00 وهي أقل من 0.01، ولاختبار معنوية هذه الفروق أُستخدمت طريقة أقل فرق معنوي (L.S.D)، وبيَّنت النتائج وجود فروق معنوية بين متوسطات قيم الامتصاصية للتراكيز المدروسة بمستوى الدلالة 1 % حيث كانت قيمة P = 0، ورُسمت معادلة المنحني القياسي Y = 3.1044x – 0.2382، حيث Y تمثل الامتصاصية و x تركيز السكر مقدر بـ غ /ليتر (الشكل 8)، وكان معامل الانحدار معنوي ($P \leq 0.01$)، ومعامل التحديد R^2 = 0.9822 ويُفسَّر بأن الغلوكوز كان مسؤولاً عن 98 % من الامتصاصية الناتجة.

الجدول(8): قيم الامتصاصية لتراكيز الغلوكوز المستخدمة في رسم المنحني القياسي:

تركيز الغلوكوز مغ / مل	الامتصاصية 540 نانومتر	تركيز الغلوكوز مغ / مل	الامتصاصية 540 نانومتر
0.0625	0.005 [a]	0.15	0.228 [f]
0.075	0.0098 [a]	0.1625	0.267 [g]
0.0875	0.0314 [a b]	0.175	0.295 [h]
0.1	0.0523 [b c]	0.1875	0.355 [i]
0.1125	0.0733 [c]	0.2	0.39 [j]
0.125	0.1343 [d]	0.2125	0.446 [k]
0.1375	0.164 [e]	0.225	0.462 [k]

النتيجة تمثل متوسط ثلاث مكررات، وتشير الأحرف المختلفة في العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%.



شكل (8) المنحني القياسي لمحلول الغلوكوز.

3-8- اختبار الخلايا الميتة Dead Cells Test:

حُضر غشاء من معلق الخميرة على شريحة مجهرية ولون بعد جفافه بأزرق الميتيلين وفحص مجهرياً، حيث تتلون الخلايا الميتة باللون الأزرق، ثم قُدِّرت النسبة المئوية للخلايا الميتة من عدد الخلايا الكلي (Painting and Kirsop, 1990).

3-9- تقدير عدد الوحدات المشكلة لمستعمرات (C.F.U):

حُل 1 غ من الخميرة الجافة في 5 مل ماء مقطر معقم ثم أكمل الحجم إلى 50 مل، وحضرت تخفيفات متسلسلة من المعلق المذكور وزُرع 50 ميكروليتر من كل تخفيف على وسط آغار الخميرة والببتون والغلوكوز (10 غ/ ليتر مستخلص خميرة و 20 غ/ ليتر ببتون و 20 غ / ليتر غلوكوز و5 غ/ ليتر آغار) في أطباق بتري وعدت المستعمرات المتشكلة في كل طبق بعد 24 ساعة.

3-10- اختبارات ما بعد التخمير Post Fermentation Tests:

فُصلت الخميرة الناتجة عن سائل التخمير باستخدام مثفلة إنكليزية الصنع من نوع (Biofuge Primimco R Heraeus)، ثم غُسل الراسب بالماء المقطر وثُفل مجدداً وجُففت في فرن التجفيف حتى ثبات الوزن للحصول على الخميرة الجافة وفق (صادق وحناوي، 2010) و(Jiru, 2009)، وحُسبت الكتلة الحيوية الناتجة مقدرة بـ غ/ ليتر، وفي تجارب إنتاج الإيتانول الحيوي ثُفل سائل التخمير للتخلص من خلايا الخميرة، ومن ثم قُطر السائل للحصول على الإيتانول المتشكل، وقُدرت نسبته بمقياس الإيتانول هيدرومتر (حجم/ حجم).

3-11- تصميم التجربة Experimental design:

لدراسة الظروف المثلى لإكثار الخميرة وإنتاج الإيتانول الحيوي ودراسة تأثير كل عامل على حدا ودراسة العوامل المتفاعلة مع بعضها البعض، صُممَت التجارب باستخدام برنامج Minitab وتصميم Respone Surface Methodology (RSM) وتم تحليل التباين باستخدام ANOVA وحساب أقل فرق معنوي

(L.S.D)، وتضمنت التجارب 40 اختباراً لأمثلة إكثار الخميرة، و30 اختباراً لأمثلة إنتاج الإيتانول، وأخذ متوسط قراءات ثلاث مكررات لكل تجربة، ودُرس كل عامل عند ثلاثة مستويات −1، 0 ، +1، فبالنسبة لإكثار الخميرة دُرس تأثير العوامل عند المستويات التالية: رقم الحموضة (pH =4، 5، 6)، زمن التخمير (14، 28، 42 ساعة) تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم (0، 0.5، 1%)، تركيز السكر الأولي (2.5، 5، 7.5 %)، درجة الحرارة (20 ,30 ,40° م) وبأحجام (250، 500، 750 مل)، ولقحت بالبادئ 1 غ/ ليتر وحُضنت في الهزازة الرحوية على سرعات (200، 250، 300 دورة / الدقيقة)، وقُدِّر لكل اختبار كمية الخميرة الجافة الناتجة وكمية السكر المستهلك والمردود كما هو مبيَّن في الجداول (12) و(13)، أما بالنسبة لإنتاج الإيتانول دُرس تأثير العوامل عند المستويات التالية: رقم الحموضة (pH=4، 5، 6)، وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم واليوريا (0 %، 0.12 % يوريا و0.34 % فوسفات ثنائية الأمونيوم، 0.24 % يوريا و0.68 % فوسفات ثنائية الأمونيوم) وتركيز السكر الأولي (140، 160، 180غ / ليتر) ، وحجم اللقاحة (1، 3، 5 %) ونُفذت التجارب بحجم 200 مل وحُضنت على درجة حرارة 30°م مدة 24 ساعة وبسرعة دوران 200 دورة / الدقيقة.

3-12- تحضير خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري:

حُضرت خمس خلائط من عصارة الذرة البيضاء والمولاس وفق الجدول التالي رقم (9):

الجدول (9): نسب خلط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري.

الخلطات	الأولى (A)	الثانية (B)	الثالثة (C)	الرابعة (D)	الخامسة (D)
نسبة عصارة الذرة السكرية، %	0	25	50	75	100
نسبة مولاس الشوندر السكري، %	100	75	50	25	0

زُرعت بذار نبات الذرة البيضاء السكرية (في بداية الشهر الخامس من الأعوام 2013–2016) وحُصدت السوق النباتية في مرحلة نضج الحبوب، خلال شهري آب وأيلول.

استخرج العصير السكري من السوق النباتية باستخدام عصَّارة ميكانيكية محلية الصنع ذات ثلاث أسطوانات.

دُرس تركيب مكونات العُصارة السكرية (بتقدير نسبة المادة الصلبة الذائبة، كمية ونوعية السكريات، نسبة الآزوت، نسبة العناصر المعدنية الهامة، الرماد، الرطوبة)

حُضرت أوساط التخمير من العُصارة السكرية ومولاس الشوندر مع ضبط الشروط (تركيز السكر الأولي، إضافة مواد مغذية آزوتية، الحرارة،pH) وفق تصميم التجربة RSM، مع استخدام مولاس الشوندر كشاهد للمقارنة.

عُقمت الأوساط بالأوتوكلاف عند الدرجة 121° م مدة 20 دقيقة، ثم بُردت إلى الدرجة 30° م

لُقحت الأوساط بالبادئ (الخميرة، E2) في ظروف عقيمة ضمن غرفة الزرع الجرثومي.

إكثار هوائي لإنتاج الكتلة الحيوية، Biomass

أمثلة شروط النمو لإنتاج الكتلة الحيوية

تخمير لاهوائي، لإنتاج الإيتانول الحيوي

أمثلة شروط التخمير لإنتاج الإيتانول الحيوي

تركيز السكر الأولي، رقم الحموضة pH، تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم واليوريا، مدة التخمير، سرعة الدوران، درجة الحرارة.

حُللت النتائج باستخدام برامج Mini Tab وSPSS، وحُصل على الشروط المثلى لإكثار الخميرة وإنتاج الإيتانول من عصارة الذرة البيضاء السكرية.

شكل(9) مخطط العمل.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

4- النتائج والمناقشة Results and discussion:

4-1- تحليل مكونات عصارة الذرة البيضاء السكرية بالمقارنة مع المولاس:

دُرست الخواص الكيميائية لعصارة الذرة، وقورنت مع المولاس المستخدم كشاهد وكانت النتائج كما هو موضح في الجدول (10):

الجدول (10): مقارنة الخواص الكيميائية لعصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري.

الخواص الكيميائية	المولاس الخام	عصارة الذرة البيضاء السكرية الخام بريكس 18 %	المولاس بعد تمديده بالماء المقطر إلى بريكس 18 %
المادة الصلبة المنحلة، بريكس	76.5	18	18
السكر الكلي %	45.3	16.6	10.65
الرطوبة %	23.5	82	82
الآزوت %	1.45	0.44	0.34
الرماد %	7.6	1.1	1.78
Fe مغ/ كغ	30.15	1.3	7.09
Zn مغ/ كغ	13.64	0.21	3.2
Cu مغ/ كغ	4.61	0.25	1.08

قورنت نتائج التحليل الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية (ذات درجة بريكس = 18%) والمولاس بعد تمديده بالماء المقطر إلى درجة بريكس مساوية لدرجة بريكس عصارة الذرة السكرية (18%). احتوت عصارة الذرة 16.6% سكر كلي و 0.44 % آزوت و1.1 % رماد بالمقارنة مع 10.65 % و0.34 % و1.7 % للمولاس على التوالي، وبيَّنت نتائج التحليل الكيميائي النوعي للسكريات في عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية، باستخدام جهاز الاستشراب عالي الأداء (HPLC) وطور متحرك مكوَّن من

أسيتونتريل بنسبة 85 % وماء HPLC بنسبة 15% وحرارة 30°م وتدفق 2.4 مل/ دقيقة (Davis *et al*., 2006)، أن السكروز يشكل 63.7 % من السكريات الذائبة الكلية ثم يليه الغلوكوز بنسبة 21 % والفركتوز بنسبة 14.7 %.

2-4- اختبار السلالة المستخدمة كبادئ: Results **of starter test**

بيَّنت نتائج اختبارات السلالات المستوردة نقاوة عالية للسلالة E2 وذلك بخلوها من التلوث وانخفاض نسبة الخلايا الميتة (أقل من 2 %)، في حين وُجد تلوث في السلالتين E1 و I وارتفاع نسبة الخلايا الميتة إلى 3–4 %، وغربلت هذه السلالات على أساس عدد الوحدات المشكلة لمستعمرات (C.F.U) واختبار قوة رفع العجين، بيَّنت النتائج ارتفاع عدد الوحدات المشكلة لمستعمرات للسلالة E2 $10 x1^{9}$ خلية / مل مقارنةً بـ $10 x 8^{7}$ خلية / مل و $10 x 2.4^{7}$ خلية / مل للسلالتين E1 وI على التوالي، وكذلك بيَّنت نتائج اختبار قوة رفع العجين أن السلالة E2 أعطت أعلى قوة رفع عجين327 سم^3 (الجدول 11)، وكذلك بيَّنت نتائج فحص المستعمرات والخلايا إعطاءها مستعمرات كريمية اللون لماعة، سطحية، مستديرة الشكل وذات حواف منتظمة والخلايا بيضوية كبيرة الحجم ذات برعمة محيطية.

الجدول (11): مقارنة قوة رفع العجين للسلالات المدروسة.

		السلالة E1 مصر	السلالة E2 مصر	السلالة I ايران
متوسط ارتفاع العجين، سم^3	في بداية التجربة:	127	130	132
	في نهاية التجربة:	255	457	355
قوة التخمر، سم^3		128	327	223

الجدول (12): كمية الخميرة الجافة والسكر المستهلك والمردود بالنسبة لعصارة الذرة البيضاء السكرية.

المتغيرات المدروسة				عصارة الذرة البيضاء السكرية			
تركيز السكر الأولي (غ/100 مل) %.	تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم %.	الزمن ساعة	pH	تركيز السكر في نهاية التخمر % (غ/100 مل).	السكر المستهلك % (غ/100 مل).	كمية الخميرة الناتجة غ/ ليتر	المردود % (غ خميرة /100غ سكر مستهلك).
7.5	1	42	6	3.7	3.8	3.60	9.47
7.5	0	14	4	5.3	2.2	1.84	8.36
7.5	1	14	6	5.6	1.9	3.00	15.78
7.5	0	42	6	3.5	4	3.09	7.72
2.5	1	14	6	1.4	1.1	1.80	16.36
2.5	1	42	4	0.9	1.6	1.78	11.12
7.5	1	42	4	4.2	3.3	2.92	8.84
2.5	0	14	6	1.2	1.3	1.98	15.23
5	0.5	28	4	2	3	5.17	17.23
7.5	0	14	6	5.4	2.1	2.40	11.42
2.5	0	42	4	0.8	1.7	1.86	10.94
2.5	1	14	4	1	1.5	1.27	8.46
7.5	1	28	5	2.5	5	4.93	9.86
5	0	28	5	0.7	4.3	6.70	15.6
5	0.5	14	5	2.3	2.7	3.97	14.70
7.5	0	14	4	5.6	1.9	1.87	9.84
7.5	1	14	4	5.9	1.6	1.62	10.12
7.5	0	42	4	3.6	3.9	2.44	6.25
2.5	1	42	6	0.6	1.9	2.00	10.52
5	0.5	42	5	0.2	4.8	4.87	10.14
5	0.5	28	6	1.2	3.8	5.38	14.15
5	1	28	5	1	4	6.52	16.3
2.5	0.5	28	5	0.2	2.3	4.14	18
7.5	1	42	6	3.5	4	3.66	9.15
7.5	1	42	4	4	3.5	2.95	8.42
2.5	0	42	4	0.7	1.8	1.96	10.88
7.5	1	14	6	5.4	2.1	3.06	14.57
7.5	0	14	4	5.1	2.4	1.89	7.87
2.5	1	14	4	1.1	1.4	1.36	9.71
2.5	0	42	6	0.5	2	2.22	11.1
7.5	0	14	6	5.6	1.9	2.46	12.94
2.5	1	14	6	1	1.5	1.87	12.46
2.5	0	14	6	1.4	1.1	2.04	18.54
7.5	0	42	6	3.2	4.3	3.16	7.348
2.5	1	42	6	0.6	1.9	2.05	10.78
7.5	1	14	4	5.8	1.7	1.68	9.88
5	0.5	28	6	1.3	3.7	5.38	14.54
2.5	0.5	28	5	0.1	2.4	4.20	17.5
5	0	28	5	0.8	4.2	6.68	15.90
5	0.5	42	5	0.2	4.8	4.91	10.22

الجدول (13): كمية الخميرة الجافة والسكر المستهلك والمردود بالنسبة لمولاس الشوندر السكري.

العوامل المدروسة				المولاس			
تركيز السكر الأولي % (غ/100 مل).	تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم %.	الزمن ساعة	pH	تركيز السكر في نهاية التخمر % (غ/100 مل).	السكر المستهلك % (غ/100 مل).	الخميرة الناتجة غ/ ليتر	المردود % (غ خميرة /100غ سكر مستهلك).
7.5	1	42	6	2.4	5.1	1.71	3.35
7.5	0	14	4	4	3.5	0.36	1.04
7.5	1	14	6	4.3	3.2	1.15	3.61
7.5	0	42	6	2.2	5.3	0.54	1.03
2.5	1	14	6	1	1.5	0.91	6.00
2.5	1	42	4	0.5	2.0	1.31	6.57
7.5	1	42	4	2.9	4.6	1.44	3.14
2.5	0	14	6	0.8	1.7	0.25	1.51
5	0.5	28	4	1.1	3.9	1.21	3.07
7.5	0	14	6	4.1	3.4	0.36	1.07
2.5	0	42	4	0.4	2.1	0.24	1.17
25	1	14	4	0.6	1.9	0.73	3.85
7.5	1	28	5	1.2	6.3	2.46	3.90
5	0	28	5	0.2	4.8	1.81	3.75
5	0.5	14	5	1.6	3.4	2.94	8.64
7.5	0	14	4	4.3	3.2	0.36	1.14
7.5	1	14	4	4.6	2.9	0.90	3.12
7.5	0	42	4	2.3	5.2	0.34	0.65
25	1	42	6	0.2	2.3	1.92	8.34
5	0.5	42	5	0.2	4.8	3.52	7.35
5	0.5	28	6	1.0	4	3.16	7.92
5	1	28	5	0.3	4.7	3.11	6.62
25	0.5	28	5	0.1	2.4	2.67	11.15
7.5	1	42	6	2.2	5.3	1.53	2.88
7.5	1	42	4	2.7	4.8	1.87	3.90
2.5	0	42	4	0.3	2.2	0.24	1.09
7.5	1	14	6	4.1	3.4	1.57	4.64
7.5	0	14	4	3.8	3.7	0.35	0.95
2.5	1	14	4	0.8	1.7	1.15	6.77
2.5	0	42	6	0.2	2.3	0.33	1.43
7.5	0	14	6	4.3	3.2	0.37	1.16
2.5	1	14	6	0.5	2	1.32	6.60
2.5	0	14	6	1.0	1.5	0.25	1.68
7.5	0	42	6	1.9	5.6	0.54	0.97
2.5	1	42	6	0.2	2.3	1.93	8.40
7.5	1	14	4	4.5	3	0.78	2.60
5	0.5	28	6	0.4	4.6	3.33	7.25
2.5	0.5	28	5	0.1	2.4	2.73	11.4
5	0	28	5	0.2	4.8	1.86	3.87
5	0.5	42	5	0.1	4.9	3.45	7.04

3-4- تأثير سرعة الدوران في المردود من الكتلة الحيوية للخميرة:

أُستخدم وسط مغذٍ من عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية بحجم (500مل) ورقم حموضة pH =5 وتركيز سكر أولي 5 % ودرجة حرارة 30°م ولُقحت بالبادئ E2 (1 غ/ ليتر) وحُضنت في الهزازة الرحوية (من شركة JSR الكورية) على ثلاث سرعات مختلفة (200، 250، 300 دورة/ الدقيقة) كما هو مبيَّن في الجدول (14).

الجدول (14): مقارنة الكتلة الحيوية الناتجة عند تطبيق ثلاث سرعات دوران مختلفة.

سرعة الدوران، دورة/ الدقيقة	200	250	300
السكر النهائي بعد 28 ساعة، % .	0.81	0.74	0.5
السكر المستهلك، %.	4.19 ± 0.07 [a]	4.26 ± 0.12 [a]	4.5 ± 0.05 [b]
متوسط الكتلة الحيوية الناتجة جافة، غ / ل.	6.1 ± 0.34 [a]	6.9 ± 0.08 [b]	6.3 ± 0.26 [a]
متوسط الكتلة الحيوية الناتجة جافة، غ / 100مل.	0.61 ± 0.034 [a]	0.69 ± 0.008 [b]	0.63 ± 0.26 [a]
المردود %، (وزن/ وزن).	14.6 ± 1 [a]	16.19 ± 0.2 [b]	14 ± 0.44 [a]

بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي باستعمال طريقة L.S.D وجود فروق معنوية بمستوى دلالة 0.05، حيث كانت قيمة *P*-value أقل من 0.05 بين متوسطات الكتلة الحيوية الناتجة بالنسبة لسرعات الدوران المدروسة، وحُصل على أعلى كتلة حيوية 6.9 غ / ليتر عند سرعة الدوران 250 دورة/ الدقيقة، ولوحظ أن زيادة السرعة من 200 إلى250 دورة/ الدقيقة أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية الناتجة إلا أن زيادتها إلى 300 دورة/ الدقيقة لم تؤد إلى زيادة في الكتلة الناتجة (6.3 غ / ليتر)، وكذلك فإن زيادة سرعة الدوران ترافقت مع زيادة كمية السكر المستهلك، حيث كانت كمية السكر المستهلك الأعلى 4.5 % عند السرعة 300 دورة/ الدقيقة مقارنة بـ 4.19 % و4.26 % عند سرعتي الدوران 200 و250 دورة/ الدقيقة على التوالي، وحُصل على أفضل مردود (16.19%) عند السرعة 250 دورة/ الدقيقة، في حين كان المردود أقل (14.6%) عندما زادت السرعة إلى 300 دورة/ الدقيقة، وبالتالي مثَّلت السرعة 250 دورة/ الدقيقة سرعة الدوران المثلى للحصول على أعلى مردود من الكتلة الحيوية للخميرة، وتوافقت هذه النتائج مع عديد

من الدراسات والتي تناولت أمثلة ظروف إنتاج خميرة *S. cerevisiae* من ركائز مختلفة بطريقة الدفعة، حيث سجَّل Camacho-Ruiz وآخرون (2003) حدوث ارتفاع في المردود من الكتلة الحيوية للخميرة مع زيادة سرعة الدوران من 50 حتى 250 دورة / الدقيقة ثم حدث انخفاض في المردود عند استمرار زيادة السرعة، وفَسر عديد من الباحثين ذلك بالتأثير السام للإيتانول على الخلايا، حيث تزداد نسبة الإيتانول مع زيادة سرعة الدوران، وكذلك فُسِّرت بزيادة عدد الخلايا الميتة عند سرعات الدوران العالية نتيجة لتأثير الضغط الميكانيكي للسائل على الخلايا (Boswell *et al*., 2002).

4-4- تأثير حرارة التخمير في المردود من الكتلة الحيوية للخميرة:

أُستخدم وسط مغذٍ من عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية بحجم (500 مل) ورقم حموضة pH =5 وتركيز سكر أولي 5 % ودرجة حرارة 30°م ولُقحت بالبادئ E2 (1 غ / ليتر) وحُضنت في الهزازة الرحوية (من شركة JSR الكورية) على خمس درجات حرارة مختلفة (20،25، 30 ،35، 40°م) وبسرعة دوران (250 دورة / الدقيقة) الجدول (15):

الجدول (15): مقارنة الكتلة الحيوية الناتجة عند تطبيق خمس درجات حرارة مختلفة.

درجة الحرارة، °م.	20	25	30	35	40
السكر الكلي بعد 28 ساعة، %.	2	0.93	0.76	0.81	3.5
السكر المستهلك، %.	3 ± 0.1^{a}	3.87 ± 0.05^{b}	4.24 ± 0.05^{c}	4.19 ± 0.08^{d}	1.5 ± 0.07^{d}
متوسط الكتلة الحيوية جافة، غ / ليتر.	3.92 ± 0.5^{b}	5.34 ± 0.2^{c}	6.63 ± 0.4^{d}	5.12 ± 0.4^{bc}	1.65 ± 0.2^{a}
متوسط الكتلة الحيوية جافة،غ /100مل.	0.392 ± 0.05^{b}	0.534 ± 0.02^{c}	0.663 ± 0.04^{d}	0.512 ± 0.04^{bc}	0.165 ± 0.02^{a}
المردود %، (وزن/ وزن).	13.1 ± 1^{ab}	13.79 ± 0.6^{ab}	15.63 ± 0.7^{b}	12.21 ± 1.4^{ab}	11 ± 1.6^{a}

النتيجة تمثل متوسط ثلاث مكررات، وتشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

تُصنَّف الخمائر من الأحياء الدقيقة غير المتحملة للحرارة العالية، ويُشكل المجال الحراري [25 -35°م] المدى الأفضل للنمو، ويتجلى دور درجة الحرارة من خلال تأثيرها في معدل نمو الخميرة ويكون هذا التأثير إما محفزاً أو مثبطاً أو قاتلاً، حيث ينخفض نشاط الخميرة عند الابتعاد التدريجي عن درجة الحرارة

المثلى لها سواء بالانخفاض أو الارتفاع إلى أن يتوقف النمو عند الارتفاع أو الانخفاض الشديد، حيث يؤدي إلى موت الخلايا، وكذلك تؤثر درجة الحرارة في معدل سير التفاعلات الكيميائية خلال نشاط الخميرة وعلى نمو الأحياء الدقيقة الأخرى في الوسط والتي تنافس الخميرة على الغذاء المتاح (Jones and Houghthe, 1970)، بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي لهذه التجربة باستعمال طريقة L.S.D، وجود فروق معنوية بين متوسطات الكتلة الحيوية الناتجة وكميات السكر المستهلكة بالنسبة لدرجات الحرارة المدروسة، حيث كانت *P*-value أقل من 0.01، ويُبيِّن الجدول (15) أن رفع درجة الحرارة من 20 °م إلى 25 °م و 30 °م أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة وبشكل تدريجي من 3.92 غ/ ليتر إلى 5.34 و6.63 غ/ ليتر على التوالي، ولكن رفعها إلى 35 °م أدى إلى انخفاض الكتلة الحيوية الناتجة إلى 5.12 غ/ ليتر وإن استمرار رفعها إلى 40 °م أدى إلى انخفاض حاد في كمية الخميرة الناتجة إلى 1.65غ/ ليتر، ويُفسر ذلك بأن درجات الحرارة المنخفضة تسبب تثبيط إنزيمات الخميرة المحللة للمواد المغذية في الوسط مما يثبط من نمو الخميرة، ومع رفع درجة الحرارة إلى الدرجة المثالية للنمو (30°م) تنشُط إنزيمات التحليل الغذائي فتنشط بالتالي الخلايا وتقوم بتمثيل المغذيات في الوسط، ولكن مع استمرار رفع درجة الحرارة تبدأ الكتلة الحيوية بالانخفاض تدريجياً حتى الوصول إلى الدرجة 35 °م وبعدها فإن رفع درجة الحرارة إلى 40°م أدى إلى انخفاض شديد وحاد في الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة الجدول (15)، ويُفسر ذلك بأن الارتفاع الشديد لدرجة الحرارة خارج المدى المثالي يؤدي إلى حدوث تغيرات في سيتوبلاسما الخلايا وما تحتويه من بروتينات وإنزيمات والتي تبدأ بالتخثر، مما يسبب تباطؤ في النمو ثم موت الخلايا. وكذلك بالنسبة للمردود فقد بيَّنت النتائج ازدياد المردود تدريجياً مع الارتفاع التدريجي لدرجة الحرارة حتى الحصول على أفضل مردود (15.63 %) عند درجة الحرارة المثلى للنمو 30 °م ولكن رفع درجة الحرارة إلى 35 °م و 40°م أدى إلى انخفاض المردود إلى 12.21 % و11 %، على التوالي.

4-5- تأثير حجم العصارة في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

استخدم وسط مغذٍ من عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية بحجم 250، 500، 750 مل، ورقم حموضة pH=5، وتركيز سكر أولي 5 %، ولقحت بالبادئ E2 (1غ / ليتر) وحُضنت على حرارة 30°م وسرعة دوران 250 دورة / دقيقة كما هو موضح في الجدول (16):

الجدول (16): مقارنة الكتلة الحيوية الناتجة من الخميرة عند استخدام ثلاث حجوم مختلفة من العصارة.

حجم العصارة، مل.	250	500	750
السكر النهائي بعد 28 h، %.	1.62	0.8	1.21
السكر المستهلك، %.	3.62 ± 0.07^{a}	4.2 ± 0.07^{b}	3.79 ± 0.07^{a}
متوسط الكتلة الحيوية جافة، غ/ ليتر.	4.86 ± 0.02^{b}	6.69 ± 0.08^{c}	4.47 ± 0.1^{a}
متوسط الكتلة الحيوية جافة، غ/ 100 مل.	0.486 ± 0.002^{b}	0.669 ± 0.008^{c}	0.447 ± 0.01^{a}
المردود %، (وزن/ وزن).	13.42 ± 0.2^{b}	15.92 ± 0.1^{c}	11.79 ± 0.5^{a}

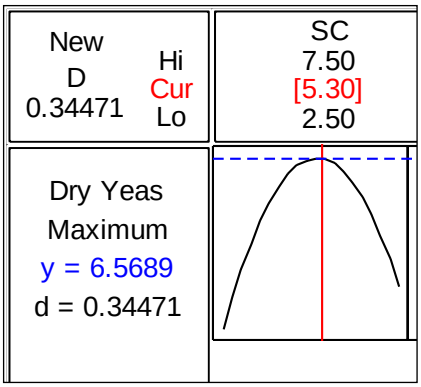
النتيجة تمثل متوسط ثلاث مكررات، وتشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

أظهرت نتائج استعمال طريقة L.S.D وجود فروق معنوية بمستوى دلالة 0.01 بين الحجوم 250 مل و500 مل و750 مل بالنسبة لكمية الخميرة الناتجة، حيث كانت قيمة $p < 0.01$، وحُصل على أعلى كتلة حيوية 6.69 غ / ليتر وأفضل مردود 15.92 % عند حجم 500 مل من العصارة، في حين كان المردود أقل 13.42 %، 11.79 % عند الحجوم 250 و750 مل على التوالي، وبالتالي مثلت نسبة العصارة للدورق 2:1 النسبة المثلى للحصول على أفضل مردود من الكتلة الحيوية، وتُفسَّر هذه النتائج بمدى كفاية المواد المغذية المتاحة في الوسط وكذلك باختلاف ارتفاع عمود الهواء المتاح في الدورق والضروري للخميرة من أجل النمو (Inparuban *et al*, 2009)، حيث يكون حجم الهواء المتاح مع توافر المكونات المغذية أفضل عند حجم 500 مل من الركيزة في دورق 1000 مل أي بنسبة 2:1.

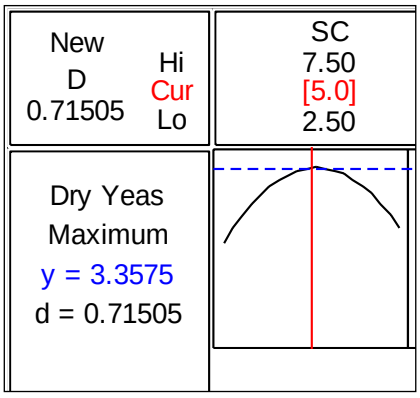
4-6- تأثير تركيز السكر الأولي في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

يتأثر نشاط الخميرة بتركيز السكريات في الوسط، حيث تتجه الخلايا عند التراكيز المنخفضة نسبياً من السكريات في مسار الأكسدة للحصول على الطاقة (Pasture effect) وتتكاثر وتنمو لإعطاء الكتلة الحيوية. بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي معنوية تأثير تركيز السكر الأولي (p <0.01) في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود، عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك، وأشارت النتائج إلى ازدياد الكتلة الحيوية مع ازدياد تركيز السكر الأولي في الوسط حتى الوصول إلى التركيز 5.3 % بالنسبة للذرة الشكل (10-a) و5 % بالنسبة للمولاس الشكل (10-b)، والتي شكَّلت التراكيز المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية للخميرة 6.56 غ/ ليتر و3.35 غ/ ليتر من ركيزتي الذرة والمولاس على التوالي، وذلك عند ضبط العوامل الأخرى عند (pH = 5 وزمن التخمير 28 ساعة ودون إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بالنسبة للذرة، و pH = 5 وزمن التخمير 28 ساعة وتركيز فوسفات الأمونيوم 0.5 % بالنسبة للمولاس)، وإن استمرار رفع تركيز السكر الأولي رافقه انخفاض تدريجي في الكتلة الحيوية. أعطى تركيز السكر 5 % أفضل مردود 15.94 % الشكل (11-a) بالنسبة للذرة وذلك عند ضبط العوامل الأخرى المدروسة عند (pH = 5 وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0.5 % وزمن تخمير 28 ساعة)، أما بالنسبة للمولاس أعطى التركيز 2.5 % أفضل مردود 11.11 % الشكل (11-b) وذلك عند ضبط العوامل الأخرى المدروسة عند (pH =5 وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0.7 % وزمن التخمير 32 ساعة)، وتوافقت هذه النتائج مع عديد من الدراسات، حيث وجد Inparuban وآخرون (2009) أن زيادة تركيز السكر في الوسط إلى 5 % أعطى أعلى كتلة حيوية، وكذلك وجد Jiru (2009) في دراسة لأمثلة إنتاج خميرة *S. cerevisiae* من مولاس قصب السكر أن معظم السلالات المدروسة أعطت أعلى كتلة حيوية عند درجة بريكس 8 أي تركيز سكر 5 %، في حين تناقص المردود مع ارتفاع تركيز السكر ليكون أقل ما يمكن عند تركيز 7.5 %، وذكر D'Amato وآخرون (2006) أن زيادة تركيز السكر الأولي في الوسط من 20 %

إلى 30 % أدى إلى انخفاض كمية الخميرة الناتجة، وهذا تطابق مع Serio وآخرون (2001)، ويُفسر ذلك وفق تأثير Crabtree effect، حيث أن التراكيز المرتفعة من السكريات في الوسط تُثبط إنزيمات التنفس(مسار الأكسدة)، وبالتالي تتجه الخميرة في مسار إنتاج الإيتانول للحصول على الطاقة اللازمة لها بالرغم من توفر الأوكسجين في الوسط، وعليه تنخفض الكتلة الحيوية وتزداد نسبة الإيتانول والذي يكون له تأثير سام على الخلايا، إضافةً إلى أن التراكيز العالية من السكريات تسبب زيادة الضغط الأسموزي على الخلايا (Ringbom *et al*., 1996; Bekatorou *et al*., 2006).

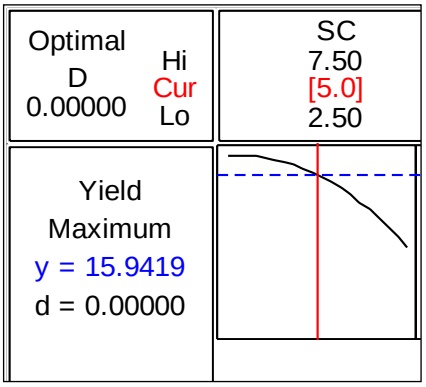


(a)

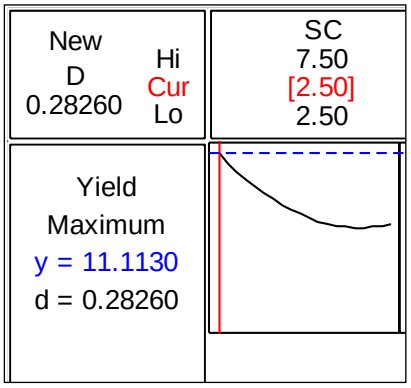


(b)

شكل (10) تأثير تركيز السكر الأولي في إنتاج الكتلة الحيوية (بالوزن الجاف، غ / ليتر)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).



(a)



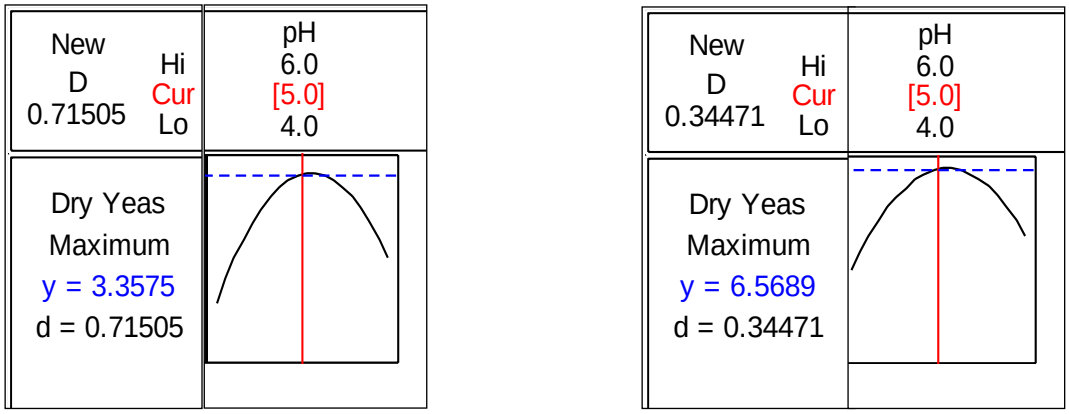
(b)

شكل (11) تأثير تركيز السكر الأولي في المردود من الكتلة الحيوية (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).

4-7- تأثير رقم الحموضة الأولي في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

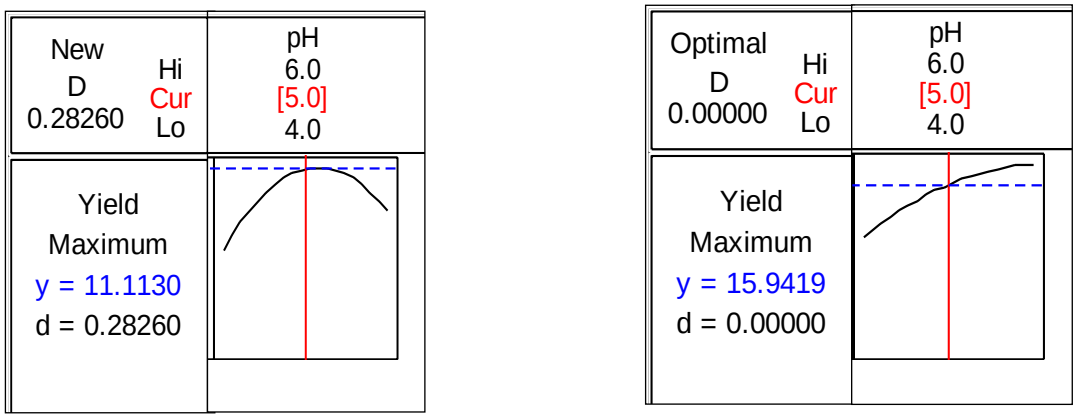
تُعد الخمائر أحياء دقيقة محبة للحموضة (Acidophilic Organism)، وهذه خاصية هامة أثناء الإنتاج الصناعي، حيث تمنع حموضة وسط النمو من حدوث تلوث ميكروبي بالأحياء الدقيقة الملوثة (صادق وحناوي 2010). بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي معنوية تأثير رقم حموضة الوسط في الكتلة الحيوية ($p \leq 0.01$)، وتشير النتائج المبيَّنة في الشكل (12, a-b) إلى قدرة الخميرة على النمو ضمن المجال المدروس من رقم pH [4-5-6]، وتوافق هذه النتائج مع ما وجده Azmuda وآخرون (2006) في دراسة لإكثار خميرة الخباز، حيث كانت الخميرة قادرة على النمو ضمن مدى من قيم pH تراوح ما بين [3.6 - 6]، وخلصت نتائج الدراسة في هذا البحث إلى ازدياد الكتلة الحيوية للخميرة مع ارتفاع رقم الحموضة من pH =4 حتى pH =5، ثم انخفضت الكتلة الحيوية بارتفاع رقم الحموضة إلى pH= 6، وعليه مثل رقم الحموضة pH =5 الحموضة المثلى لإكثار الخميرة، حيث أعطت 6.56 غ / ليتر و3.35 غ / ليتر، من ركيزتي الذرة والمولاس على التوالي، وتطابقت هذه النتيجة مع Arroyo-López وآخرون (2009) حيث وجد أن رفع رقم الحموضة من pH= 2.24 إلى 4.76 أدى إلى زيادة الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة، في حين وجد Yalcin وOzbas (2008) أن رقم الحموضة pH = 4 أعطى أعلى كتلة حيوية للسلالات المدروسة من الخميرة، وبيَّنت نتائج التحليل معنوية العلاقة بين رقم الحموضة وتركيز السكر الأولي، في حين لم يكن هناك تأثير معنوي للتفاعل بين رقم الحموضة مع الزمن، وهذا تطابق مع ما أورده Jiru (2009) حيث لم يجد تأثير معنوي للتفاعل بين رقم الحموضة pH = 5 والزمن 24 و48 ساعة في الكتلة الحيوية الناتجة، وتتوقف درجة الحموضة المثلى بالإضافة للعوامل المدروسة، على السلالة المستخدمة وهذا ما توصل إليه عديد من الباحثين، حيث وجد Jiru (2009) في دراسة لمقارنة ثلاث سلالات (*teff*, *tell*, Commercial Baker's yeast) من حيث ظروف النمو المثلى لإعطاء أعلى مردود من الخميرة من مولاس قصب السكر، أن السلالة

التجارية أعطت أعلى كتلة حيوية 2.97 غ/ ليتر عند pH = 5 وتطابق هذا مع ما توصل إليه البحث في هذه الدراسة، في حين أعطت السلالتان *teff, tell* أعلى كتلة حيوية 2.86غ/ ليتر، 2.64 غ/ ليتر عند أرقام الحموضة pH= 4 و4.5 على التوالي، وكذلك بالنسبة للمردود، يُبيِّن الشكل (13, a-b) أن رقم الحموضة pH= 5 أعطى أفضل مردود 15.94 و11.11 % بالنسبة للذرة والمولاس على التوالي، وذلك عند ضبط العوامل الأخرى عند (تركيز فوسفات الأمونيوم وزمن تخمير وتركيز السكر الأولي: 0.5 %، 28 ساعة و5 % بالنسبة للذرة، و0.7 % و32 ساعة و2.5 % بالنسبة للمولاس، على التوالي).



(a) (b)

شكل (12) تأثير الحموضة الأولي في إنتاج الكتلة الحيوية (بالوزن الجاف، غ / ليتر)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).



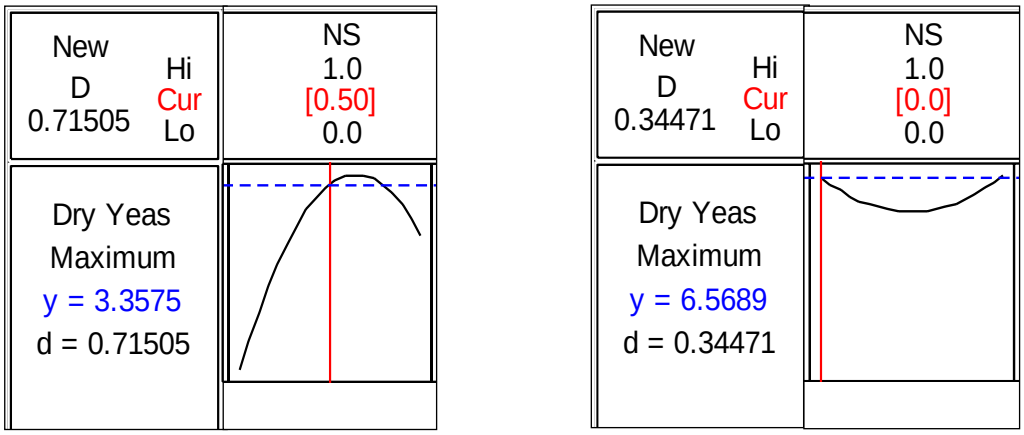
(a) (b)

شكل (13) تأثير رقم الحموضة الأولي في المردود من الكتلة الحيوية للخميرة (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).

4-8- تأثير إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

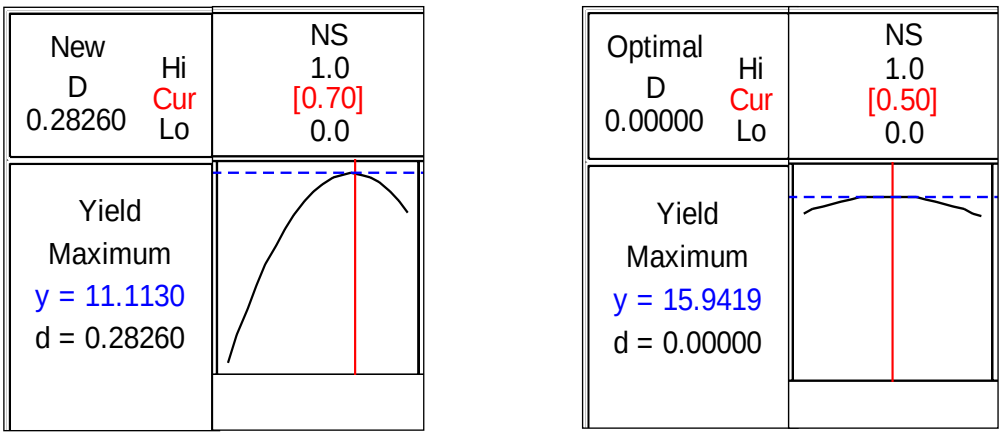
يُعد الآزوت عنصراً هاماً في حياة الخميرة، إذ يدخل في تركيب الأحماض الآمينية التي تكون بروتينات البروتوبلاسم، وتُشير نتائج التحليل الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية والمولاس عند درجة بريكس 18 % الجدول (10) إلى ارتفاع تركيز الآزوت الكلي 4.4 غ / ليتر في عصارة الذرة البيضاء السكرية بالمقارنة مع 3.3 غ / ليتر في مولاس الشوندر، وبيَّنت نتائج الدراسة أن إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم إلى عصارة الذرة البيضاء السكرية لم تؤد إلى زيادة الكتلة الحيوية الناتجة الشكل (14-a)، بل أدى إلى انخفاضها، ولكن بشكل غير معنوي نتيجة التأثير السلبي لارتفاع الملوحة والضغط الأسموزي في الركيزة على الخلايا، وفي تجربة أخرى رُفع تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم إلى 1.5 % وبيَّنت النتائج أن الكتلة الحيوية انخفضت وبشكل معنوي إلى 4.22 غ / ليتر، أما بالنسبة للمردود المحسوب على أساس كمية السكر المستهلك يُبيِّن الشكل (15، a) الحصول على أعلى مردود من الكتلة الحيوية 15.94 % من عصارة الذرة السكرية عند الشروط التالية (تركيز السكر 5 % وpH= 5 وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0.5 % وزمن التخمير 28 ساعة)، وبالمقارنة مع الشروط المثلى للحصول على أعلى كمية من الكتلة الحيوية (تركيز السكر الأولي 5 % وpH= 5 وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0.5 % وزمن التخمير 28 ساعة) لوحظ انخفاض تركيز السكر المثالي بمقدار 0.3 % (من 5.3 إلى 5 %) وازداد تركيز فوسفات الأمونيوم المطلوب إضافته بمقدار 0.5 % (من0 إلى 0.5 %)، وتُعد هذه النتيجة جوهرية في دراسة الجدوى الاقتصادية من إضافة مصدر آزوتي للعصارة، وذلك بمقارنة نقص المردود من 15.94 % (عند إضافة فوسفات الأمونيوم بنسبة 0.5 %) إلى 15.6% (من الجدول 12، عند عدم إضافة فوسفات الأمونيوم) مع تكاليف إضافة هذه النسبة، حيث يُبيِّن التحليل الإحصائي أن الفرق في المردود بين الحالتين هو0.03، أي للحصول على زيادة 0.03 غ خميرة من 100 غ سكر نحتاج إلى إضافة 5 غ فوسفات ثنائية الأمونيوم لكل 2 ليتر من العصارة السكرية، ويُستنتج من ذلك قلة جدوى

إضافة المصدر الآزوتي، أما بالنسبة للمولاس يُبيَّن الشكل (14، b) أن إضافة فوسفات الأمونيوم بنسبة 0.5 % أعطى أعلى كتلة حيوية 3.35 غ/ ليتر وإضافته بنسبة 0.7 % أعطت أعلى مردود 11.1 % الشكل (15، b).



(b) (a)

شكل (14) تأثير تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم في الكتلة الحيوية (بالوزن الجاف، غ / ليتر)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a) ومولاس الشوندر (b).

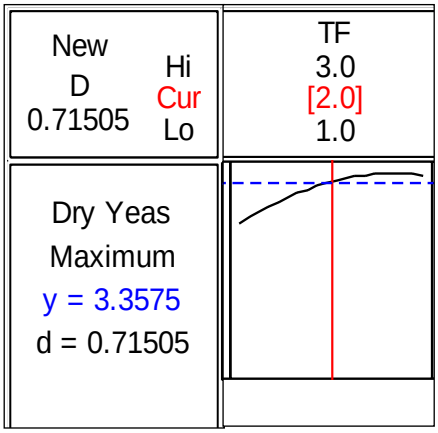


(b) (a)

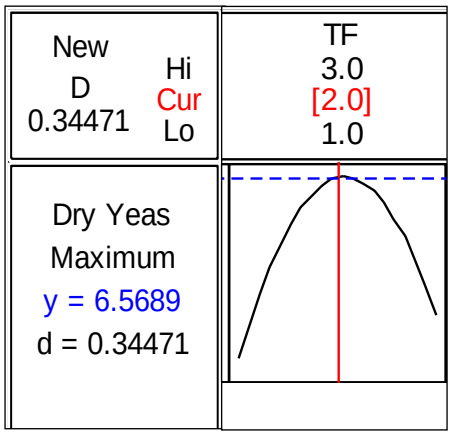
شكل (15) تأثير تركيز فوسفات الأمونيوم في المردود من الكتلة الحيوية (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة البيضاء السكرية (a)، ومولاس الشوندر (b).

4-9- تأثير زمن التخمير في الكتلة الحيوية الناتجة والمردود:

إن مدة التخمير المناسبة هامة للإنتاج الأعظمي للخميرة، وتمر الخميرة أثناء نشاطها عند توفر الشروط المثلى لها بأربعة أطوار، الطور التمهيدي وطور النمو الأسي وطور الثبات وطور التراجع أو الهبوط. بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي في هذه الدراسة معنوية تأثير زمن التخمير في الكتلة الحيوية الناتجة (p = 0.00)، حيث يشير الشكل (16-a،b) إلى ازدياد الكتلة الحيوية للخميرة مع إطالة زمن التخمير إلى 28 ساعة، حيث كانت الكتلة الحيوية 6.56 غ / ليتر و 3.35 غ / ليتر من ركيزتي الذرة والمولاس على التوالي، وذلك عند ضبط العوامل الأخرى عند الشروط المثلى لكل ركيزة، ولكن استمرار إطالة زمن التخمير لم يؤد إلى زيادة في الكتلة الحيوية، وكذلك بالنسبة للمردود من الخميرة عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك، بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي الشكل (17- a) وجود فروق معنوية بالنسبة لكمية السكر المستهلك مع الزمن حيث حُصل على أفضل مردود 15.94 % بعد 28 ساعة من التخمير بالنسبة للذرة، أما بالنسبة للمولاس وُجد أن إطالة الزمن أربع ساعات إضافية الشكل (17-b) مع ضبط الشروط الأخرى عند (pH= 5 وتركيز فوسفات الأمونيوم 0.7 % وتركيز السكر الأولي 5.2 %) أعطى أفضل مردود 11.11%، وتوافقت هذه النتائج مع عديد من الدراسات التي تناولت دراسة ظروف نمو خميرة *S. cerevisiae* من ركائز مختلفة وبطريقة الدفعة الواحدة، حيث وجد Inparuban وآخرون (2009) أن زمن التخمير 30 ساعة أعطى أعلى كتلة حيوية من الخميرة، وبيَّنت نتائج التحليل الإحصائي لهذه الدراسة عدم وجود تأثير معنوي للتفاعل بين الزمن وكل من رقم الحموضة الأولي وتركيز الآزوت، حيث كانت قيمة p = 0.1 و0.07 ، على التوالي.

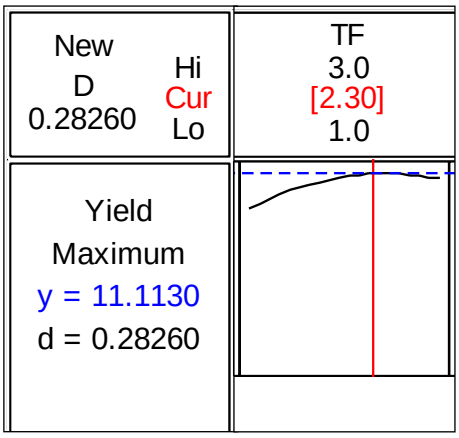


(b)

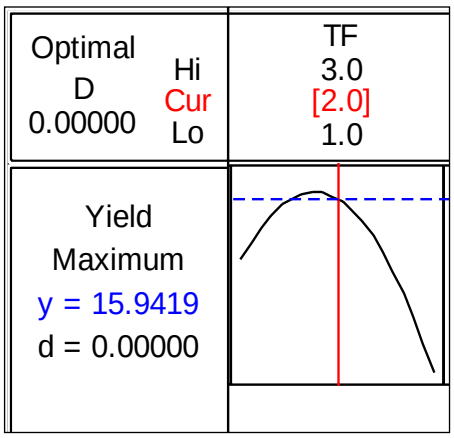


(a)

شكل (16) تأثير زمن التخمير في إنتاج الكتلة الحيوية للخميرة (بالوزن الجاف، غ / ليتر)، من الذرة السكرية (a) والمولاس (b)، حيث تمثل القيم 1، 2، 3 فترات التخمير 14، 28، 42 ساعة على التوالي.



(b)



(a)

شكل (17) تأثير زمن التخمير في مردود الكتلة الحيوية (وزن/ وزن)، من ركيزتي الذرة السكرية (a) والمولاس (b)، حيث تمثل القيم 1، 2، 3 فترات التخمير 14، 28، 42 ساعة على التوالي.

4-10- التأثير الخطي والتأثير المربع والتأثير التفاعلي لتركيز السكر الأولي وتركيز فوسفات الأمونيوم وزمن التخمير ورقم الحموضة في الكتلة الجافة والمردود من الخميرة.

بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي معنوية التأثير الخطي والمربع (وتعني تأثير العوامل المربعة مثل pH×pH في الكتلة الحيوية) والتأثير التفاعلي (وتعني تأثير العوامل المتداخلة على الكتلة الحيوية) للعوامل المدروسة في كمية الخميرة الناتجة والمردود، حيث أن قيمة p للتأثير الخطي والتأثير المربع والتأثير التفاعلي للعوامل المدروسة في الوزن الجاف للخميرة الناتجة أقل من 0.01 كما هو موضح في الجدول (17)، ولوحظ وجود ست علاقات تداخل بين المتغيرات الأربعة (العلاقة بين تركيز السكر الأولي وكل من تركيز فوسفات الأمونيوم وزمن التخمير ورقم الأولي الحموضة والعلاقة بين تركيز فوسفات الأمونيوم وكل من رقم الحموضة وزمن التخمير والعلاقة بين رقم الحموضة وزمن التخمير في التأثير في الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة) كما هو موضح في الجدول (17)، وإن علاقة كمية السكر الأولي مع كل من رقم الحموضة والآزوت وزمن التخمير معنوية ($p \leq 0.01$) في تأثيرها على الكتلة الحيوية الناتجة، في حين لم يكن هناك تأثير معنوي للتفاعل بين الزمن وكل من الحموضة وتركيز الآزوت، حيث كانت $p = 0.1$ و $p = 0.07$ على التوالي، أما التفاعل بين الآزوت ورقم الحموضة فكانت معنوية على مستوى الثقة 95 %، في حين لم تكن معنوية على مستوى الثقة 99 %، حيث أن قيمة $p = 0.02$.

الجدول (17): تأثير العوامل المدروسة في كمية الخميرة الناتجة من عصارة الذرة البيضاء السكرية.

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	30.3443−	2.11211	14.367−	0.000
SC	2.5411	0.16937	15.003	0.000
N	3.0833−	0.56559	5.451−	0.000
TF	6.7452	0.41129	16.400	0.000
pH	9.1607	0.86704	10.566	0.000
SC×SC	0.2805−	0.01509	18.597−	0.000
N×N	1.5120	0.35879	4.214	0.000
TF×TF	1.6424−	0.08499	19.325−	0.000
pH×pH	0.9128−	0.08503	10.735−	0.000
SC×N	0.1004	0.02770	3.624	0.001**
SC×TF	0.0580	0.01392	4.170	0.000**
SC×pH	0.0500	0.01390	3.599	0.001**
N×TF	0.1257	0.06840	1.838	0.079*
N×pH	0.1632	0.06760	2.414	0.024
TF×pH	0.0519−	0.03419	1.517−	0.142

تمثل الأحرف SC: تركيز السكر الأولي، وN: تركيز فوسفات ثنائية الامونيوم، وTF: زمن التخمير، والرمز pH : رقم الحموضة، ويشير الرمز * إلى معنوية التفاعل على مستوى 0.05 والرمز ** إلى معنوية التفاعل على مستوى 0.01.

كما يُبيِّن الجدول (18) أن متغيراً واحداً على الأقل من المتغيرات المدروسة (رقم الحموضة، زمن التخمير، تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم، تركيز السكر الأولي) ذو تأثير معنوي في كمية الخميرة الناتجة.

الجدول (18): تحليل التباين لكمية الخميرة الناتجة من عصارة الذرة البيضاء السكرية.

Source (مصدر التباين)	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression (الانحدار)	14	94.037	94.037	6.717	236.190	0.000
Linear (التأثير الخطي)	4	9.840	24.875	6.219	218.670	0.000* *
Square (التأثير المربع)	4	82.867	79.422	19.856	698.200	0.000* *
Interaction (التأثير التفاعلي)	6	1.329	1.329	0.222	7.790	0.000* *
Residual Error (الخطأ المتبقي)	24	0.683	0.683	0.028		
Lack-of-Fit	22	0.682	0.682	0.031	310.140	0.003
Pure Error (الخطأ الصافي)	2	0.000	0.000	0.000		
Total	39	95.146				

أما بالنسبة للتأثير المشترك للمتغيرات المدروسة في المردود من الكتلة الحيوية، يُبيِّن الجدول (19) وجود تأثير مشترك ومعنوي لكلٍ من علاقة التداخل بين الزمن ورقم الحموضة، حيث أن قيمة p = 0.007، وعلاقة التداخل بين تركيز السكر الأولي وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم، على مستوى الدلالة 95 %، (p =0.02)، في حين لم يكن لبقية علاقات التداخل (الزمن وتركيز السكر الأولي، رقم الحموضة وتركيز السكر الأولي، الزمن وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم، رقم الحموضة وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم) تأثير مشترك معنوي في المردود من الخميرة.

الجدول (19): تأثير العوامل المدروسة في المردود من الخميرة الناتجة (وزن/ وزن)، من عصارة الذرة البيضاء السكرية.

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	19.4847−	20.9118	0.932−	0.361
SC	0.6266	1.6769	0.374	0.712
N	3.8103−	5.5999	0.680−	0.503
TF	16.6009	4.0721	4.077	0.000
pH	7.4163	8.5845	0.864	0.396
SC×SC	0.1344−	0.1494	0.900 −	0.377
N×N	2.0693−	3.5524	0.583 −	0.566
TF×TF	3.2083−	0.8414	3.813 −	0.001
pH×pH	0.4545−	0.8419	0.540 −	0.594
SC×N	0.6611	0.2742	2.411	0.024*
SC×TF	0.1170−	0.1378	0.850−	0.404
SC×pH	0.0136	0.1376	0.099	0.922
N×TF	0.6149	0.6772	0.908	0.373
N×pH	0.2461	0.6693	0.368	0.716
TF×pH	1.0064−	0.3385	2.973−	0.007**

يشير الرمز * إلى معنوية التفاعل على مستوى 0.05 والرمز ** إلى معنوية التفاعل على مستوى 0.01.

11-4 - تطبيق جميع الشروط المثلى المستنتجة في الدوارق و المفاعل الحيوي المخبري:

طُبقت جميع الشروط المثلى المستنتجة من التجارب السابقة في الدوارق والمفاعل الحيوي المخبري، لكل من عصارة الذرة البيضاء السكرية (pH = 5 والزمن 28 ساعة وتركيز السكر الأولي 5.3 %) والمولاس (pH =5 وتركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم 0.5 % والزمن 28 ساعة وتركيز سكر أولي 5 %)، بنسبة حجم العصارة للدورق 2:1 أي500 مل من وسط التخمر في دورق 1000مل، بالنسبة للدوارق، و750 مل من وسط التخمر بالنسبة للمفاعل، حيث أن حجم وعاء التخمير في المفاعل 1500 مل، ودرجة حرارة تخمير 30 °م ولقحت بالبادئ E2 (1 غ/ ليتر) وكانت النتائج كما في الجدول (20) والجدول (21):

الجدول (20): الكتلة الحيوية للخميرة عند تطبيق الشروط المثلى المستحصل عليها في الدوارق.

نوع الركيزة	عصارة الذرة البيضاء السكرية	المولاس
السكر في بداية التجربة %.	5.3	5
تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم %.	0	0.5
السكر الكلي بعد 28 ساعة %.	0.98 ± 0.05	1.88 ± 0.04
السكر المستهلك %.	4.32 ± 0.05	3.12 ± 0.04
متوسط الكتلة الحيوية الناتجة جافة غ/ ليتر.	6.90 ± 0.04	3.47 ± 0.08
متوسط الكتلة الحيوية الناتجة جافة غ/ 100مل.	0.69 ± 0.004	0.347 ± 0.008
المردود %، (وزن/ وزن).	15.97 ± 0.08	11.12 ± 0.08

الجدول (21): الكتلة الحيوية للخميرة عند تطبيق الشروط المثلى المستحصل عليها في المخمِّر.

نوع الركيزة	عصارة الذرة السكرية	المولاس
السكر في بداية التجربة % .	5.3	5
تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم %.	0	0.5
السكر الكلي بعد6 ساعات، %.	2.8 ± 0.1	2.7 ± 0.04
السكر المستهلك، %.	2.5 ± 0.1	2.3 ± 0.07
متوسط الكتلة الحيوية الناتجة جافة، غ/ ليتر.	5.9 ± 0.1	4.7 ± 0.1
متوسط الكتلة الحيوية الناتجة جافة، غ/ 100مل.	0.59 ± 0.01	0.47 ± 0.01
المردود %، (وزن/ وزن).	23.68 ± 0.1	20.3 ± 0.08

أُجري التحليل الإحصائي باستخدام برنامج SPSS 15 بتحليل التباين ANOVA، للمقارنة بين متوسطات الكتلة الحيوية الناتجة من المفاعل الحيوي مع المتوسطات الناتجة من الدوارق وحُسب أقل فرق معنوي (L.S.D) على مستوى ثقة 99 %، بيَّنت النتائج وجود فروق معنوية بين متوسطات الكتلة الحيوية للخميرة الناتجة في المفاعل الحيوي والمتوسطات الناتجة في الدوارق بالنسبة لكلى الركيزتين مع وجود فروق معنوية بين الكتلة الحيوية الناتجة من عصارة الذرة والمولاس ($p \geq 0.01$)، حيث أعطت عصارة الذرة 5.9 غ/ ليتر في المفاعل الحيوي وبعد 6 ساعات من التخمر، في حين أعطى 6.9 غ/ ليتر في الدوارق ولكن بعد 24 ساعة من التخمر، وبينت النتائج ارتفاع المردود معنوياً عند تطبيق الشروط في المفاعل الحيوي، حيث زاد من 15.97% إلى 23.68 % بزيادة قدرها 7.71 % بالنسبة لعصارة الذرة، ومن 11.12 % إلى 20.3 % بزيادة قدرها 9.18 % بالنسبة لمولاس الشوندر.

12-4- إكثار خميرة الخباز من خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري.

مُددت عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري حتى تركيز سكر أولي 5.3 % وحُضرت خلائط من عصارة الذرة والمولاس، ودون إضافة مصدر خارجي من الآزوت، وطبقت الشروط المثلى المستنتجة من التجارب السابقة، حيث عُدلت الحموضة باستخدام حمض كلور الماء وهيدروكسيد الصوديوم حتى الوصول إلى رقم pH = 5 ثم عقمت الخلائط بالأوتوكلاف عند الدرجة121°م مدة 20 دقيقة، وبُردت إلى الدرجة 30° م، ثم لُقحت بالبادئ E2 (1غ/ ليتر) في ظروف عقيمة ضمن غرفة العزل الجرثومي، وفي نهاية التخمر قُدرت كمية الخميرة الجافة الناتجة وكمية السكر المستهلك والمردود ويُبيِّن الجدول (22) والجدول (32) الكتلة الحيوية الناتجة والمردود من كل خلطة، في الدوارق والمفاعل الحيوي المخبري، على التوالي.

الجدول (22): الكتلة الحيوية الناتجة من خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري، في الدوارق.

الخلطة	A	B	C	D	E
السكر في بداية التجربة، %.	5.3				
السكر الكلي في نهاية التخمر، %.	1.7	1.4	1	0.8	0.64
السكر المستهلك، %.	3.3 ± 0.02^{a}	3.6 ± 0.02^{b}	4 ± 0.1^{c}	4.2 ± 0.07^{cd}	4.36 ± 0.07^{d}
متوسط الكتلة الحيوية جافة، غ/ ليتر.	1.82 ± 0.04^{a}	2.94 ± 0.08^{b}	5.28 ± 0.15^{c}	6.30 ± 0.15^{a}	6.7 ± 0.7^{d}
متوسط الكتلة الحيوية جافة، غ/ 100 مل.	0.182 ± 0.004^{a}	0.294 ± 0.008^{b}	0.528 ± 0.015^{c}	0.630 ± 0.015^{a}	0.67 ± 0.07^{d}
المردود %، (وزن/ وزن).	5.51 ± 0.17^{a}	8.1 ± 0.29^{b}	13.2 ± 0.26^{c}	15 ± 0.43^{d}	15.36 ± 0.4^{d}

النتيجة تمثل متوسط ثلاث مكررات، وتشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

أُجريَ تحليل التباين ANOVA وحُسب أقل فرق معنوي (L.S.D) على مستوى ثقة 99 %، وبيَّنت النتائج وجود فروق معنوية بين متوسطات الكتلة الحيوية الناتجة عن الخلطات المدروسة، وازدادت الكتلة

الحيوية الناتجة مع زيادة نسبة عصارة الذرة البيضاء السكرية في الخلطة، حيث أعطى المولاس وحده (الخلطة الأولى) أقل كتلة حيوية 1.82 غ/ ليتر من الخميرة وازدادت الكتلة الحيوية الناتجة تدريجياً مع زيادة نسبة عصارة الذرة في الخلطات، حيث أعطت الخلطة الخامسة (E) أعلى كتلة 6.7 غ / ليتر، ولوحظ كذلك زيادة كمية السكر المستهلك، حيث كانت في المعاملة (E) هي الأعلى 4.36 %، في حين كانت 3.3 % في المعاملة (A)، ويُفسر ذلك بأن السكريات في الوسط هي المصدر الرئيسي للكربون الذي يدخل في تركيب خلايا الخميرة الجديدة الناتجة وبالتالي زيادة معدل استهلاك السكريات مع زيادة الكتلة الحيوية الناتجة، وكذلك بالنسبة للمردود، حيث ازداد مع زيادة نسبة عصارة الذرة البيضاء في الوسط، حيث ارتفع من 5.51 % في المعاملة الأولى (A)، التي لم تحتو على أي نسبة من عصارة الذرة إلى 15% و15.36% في الخلطة الرابعة (D) والمعاملة الخامسة (E)، واللتان احتوتا على 75% و100% عصارة ذرة بيضاء سكرية، على التوالي، ويُفسر ذلك بوجود العديد من المركبات الكيميائية في مولاس الشوندر السكري والتي تتشكل أثناء تصنيع السكر ولها تأثير مثبط للخميرة، وبيَّنت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فرق معنوي بالنسبة للمردود من الخميرة بين الخلطة الرابعة (D) والمعاملة الخامسة (E)، حيث تشير الأحرف المتماثلة في الصف الواحد إلى عدم وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

الجدول (23): الكتلة الحيوية الجافة الناتجة من خلائط عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري، في المفاعل الحيوي المخبري.

الخلطة	A	B	C	D	E
السكر في بداية التجربة %.	5.3				
السكر الكلي في نهاية التخمر، % .	3	2.7	2.6	2.5	2.8
السكر المستهلك، % .	2.3 ± 0.04^{a}	$2.6 \pm 0.07^{b\,c}$	$2.7 \pm 0.05^{c\,d}$	2.8 ± 0.02^{d}	2.5 ± 0.05^{b}
متوسط الكتلة الحيوية، غ / ليتر.	2.32 ± 0.05^{a}	3.3 ± 0.04^{b}	4.31 ± 0.07^{c}	5.6 ± 0.1^{d}	5.9 ± 0.07^{e}
متوسط الكتلة الحيوية، غ/100 مل.	0.232 ± 0.005^{a}	0.33 ± 0.004^{b}	0.431 ± 0.007^{c}	0.56 ± 0.01^{d}	0.59 ± 0.007^{e}
المردود %، (وزن/ وزن).	10.08 ± 0.02^{a}	12.69 ± 0.07^{b}	15.96 ± 0.07^{c}	20 ± 0.01^{d}	23.68 ± 0.05^{e}

النتيجة تمثل متوسط ثلاث مكررات، وتشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

بيَّن الجدول (23) ارتفاع المردود عند تطبيق التجارب في المفاعل الحيوي المخبري، حيث ارتفع من 15 إلى 20 % بزيادة قدرها 5 % بالنسبة للخلطة (D) ومن 15.36 % إلى 23.68 % بزيادة قدرها8.5 % بالنسبة للمعاملة (E)، ويعود ذلك إلى تحسن ظروف التهوية في بيئة النمو، وانخفاض كمية السكر المستهلك، وبيَّنت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بالنسبة لكمية الخميرة الناتجة والمردود من الخلطات المدروسة، حيث تُشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%، وتُعد هذه النتيجة هامة وجوهرية حيث يمكن الاستعاضة عن إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم لمولاس الشوندر السكري بتحضير خلائط من عصارة الذرة البيضاء السكرية ومولاس الشوندر السكري بنسبة 50%، حيث أن مولاس الشوندر السكري أعطى أعلى كتلة حيوية 3.35غ/ ليتر عند إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.5 %، في حين أعطت الخلطة (C)، التي احتوت 50 % عصارة ذرة بيضاء سكرية و50 % مولاس الشوندر السكري، ودون إضافة أي مصدر خارجي من الأزوت 4.31 غ/ ليتر من الخميرة وبزيادة معنوية وقدرها 0.96 غ/ ليتر، وبينت النتائج ازدياد الكتلة الحيوية مع زيادة نسبة عصارة الذرة البيضاء السكرية في الخلطات، حيث أعطت الخلطة الخامسة (E) أعلى كتلة حيوية 5.9 غ / ليتر وبعد 6 ساعات من التخمير.

4 -13- التأثير الخطي والتأثير المربع والتأثير المتداخل للعوامل المدروسة في نسبة الإيتانول والمردود.

نُفذت تجارب المعاملات حسب تصميم RSM، وقدرت لكل معاملة نسبة الإيتانول (حجم / حجم) الناتجة وكمية السكر المستهلك والمردود كما هو مُبيَّن في الجدول (24). التأثير الخطي: بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي التأثير الخطي للمتغيرات الأربعة المدروسة في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك، حيث يُبيِّن الجدول (a-25) قيمة p لكل متغير ولوحظ معنوية تأثير الحموضة وتركيز الآزوت في نسبة الإيتانول حيث أن قيمة p =0.02 < 0.05، ويُبيِّن الجدول (b-25) معنوية تأثير تركيز الآزوت على المردود من الإيتانول حيث أن قيمة p =0.002 <0.05. التأثير المربع Square effect (تأثير العوامل المربعة مثل pH×pH في نسبة الإيتانول) بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي معنوية التأثير المربع لرقم الحموضة وتركيز الآزوت في نسبة الإيتانول الناتجة، حيث كانت قيمة p = 0.04 و0.02 ≤ 0.05 على التوالي، بينما كان التأثير المربع لباقي المتغيرات غير معنوي (p > 0.05) في نسبة الإيتانول (الجدول a -24)، وكذلك بيَّنت النتائج معنوية التأثير المربع لرقم الحموضة على المردود من الإيتانول حيث كانت قيمة p =0.02 < 0.05 (الجدول b-25). وعند دراسة التأثير التفاعلي (تأثير العوامل المتداخلة في نسبة الإيتانول) بيَّنت النتائج وجود ست علاقات تداخل بين المتغيرات الأربعة المدروسة وهي: العلاقة بين تركيز السكر الأولي وكلٍ من تركيز الآزوت وحجم اللقاح ورقم الحموضة، والعلاقة بين رقم الحموضة وكلٍ من تركيز الآزوت وحجم اللقاح والعلاقة بين تركيز الآزوت وحجم اللقاح، في التأثير في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود منه، وكذلك بيَّنت النتائج معنوية علاقة رقم الحموضة مع نسبة الآزوت (p ≤ 0.05) في التأثير في نسبة الإيتانول والمردود (الجدول 25، b-a).

الجدول (24): نسب الإيتانول الناتجة وكمية السكر المستهلك والسكر النهائي والمردود.

السكر الأولي % (غ/100 مل)	السكر النهائي % (غ/100 مل)	نسبة الإيتانول % (حجم/ حجم)	السكر المستهلك % (غ/100 مل)	المردود % (مل/ 100 غ سكر)
12	1.3	5.2	10.7	48.6
18	1.7	8.37	16.3	51.3
18	1.2	6.87	16.8	40.8
12	0.8	4.8	11.2	41
18	1.4	7.6	16.6	46
12	0.4	5.2	11.6	44.8
12	1	5.2	11	47.2
18	0.3	8.4	17.7	47.4
18	1.4	7.2	16.6	43.3
12	0.8	5.1	11.2	45.5
12	1	5	11	45.5
12	0.2	5.4	11.8	45.8
15	1.4	5.7	13.6	41.9
15	1.1	8.1	13.9	58.27
15	1.9	6.4	13.1	48.8
18	2	5	16	31.25
12	1.8	4.8	10.2	47.05
12	0.3	6.4	11.7	54.7
18	2.4	5.9	15.6	37.82
15	2	6.8	13	52.3
18	4.5	8.2	13.5	60.7
15	1.9	6.8	13.1	51.9
15	1.9	6.7	13.1	51.1
18	1.8	9.1	16.2	56.17
12	0.8	5.2	11.2	46.42
18	3.4	6.2	14.6	42.46
12	1	5.2	11	47.27
18	1.4	8.71	16.6	52.46
18	1.5	8	16.5	48.48
12	0.2	6.6	11.8	55.9

الجدول (25): تأثير العوامل المدروسة في نسبة الإيتانول الناتجة (a) والمردود عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك (b) ، (حجم/ وزن).

(a)

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	-26.1495	12.0926	-2.162	0.048
SC	0.3176	1.417	0.224	0.826
pH	10.5482	4.2339	2.491	0.026 *
N	13.5708	10.5132	1.291	0.0218*
Vol	0.6361	0.8005	0.795	0.44
SC×SC	0.0151	0.0464	0.325	0.75
pH×pH	-0.9145	0.4172	-2.192	0.046 *
N×N	51.1517	24.2849	2.106	0.054*
Vol×Vol	-0.1536	0.1043	-1.473	0.163
SC ×pH	-0.069	0.0502	-1.374	0.191
SC×N	-0.6214	0.4531	-1.371	0.192
SC×Vol	0.008	0.0251	0.319	0.755
pH×N	-4.3448	1.3166	-3.3	0.005**
pH×Vol	0.0476	0.0764	0.624	0.543
N×Vol	0.2023	0.6583	0.307	0.763

(b)

S	Coef	SE Coef	T	P
Constant	55.4877	2.3383	23.73	0
SC	0.5529	1.0348	0.534	0.602
pH	0.3597	1.0348	0.348	0.733
N	-3.9746	1.0191	-3.9	0.002 **
Vol	1.8147	1.0348	1.754	0.101
SC×SC	3.3773	3.0776	1.097	0.291
pH×pH	-7.9427	3.0776	-2.581	0.022 *
N×N	0.8923	3.0776	0.29	0.776
Vol×Vol	-5.4877	3.0776	-1.783	0.096
SC×pH	0.1984	1.0934	0.181	0.859
SC×N	-1.2909	1.0863	-1.188	0.254
SC×Vol	0.1146	1.0934	0.105	0.918
pH×N	-2.8885	1.0863	-2.659	0.019**
pH×Vol	1.4547	1.0934	1.33	0.205
N×Vol	0.1128	1.0863	0.104	0.919

تشير الأحرف SC إلى تركيز السكر الأولي، وN: تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم واليوريا، وVol: حجم اللقاح، والرمز pH: رقم الحموضة، ويشير الرمز * إلى معنوية التفاعل على مستوى 0.05 والرمز ** إلى المعنوية على مستوى 0.01، ويُبيِّن الجدول (26) أن متغيراً واحداً على الأقل من المتغيرات المدروسة ذو تأثير خطي ومربع معنوي في نسبة الإيتانول ($p \leq 0.05$).

الجدول (26): التأثير الخطي والمربع للعوامل المدروسة في نسبة الإيتانول.

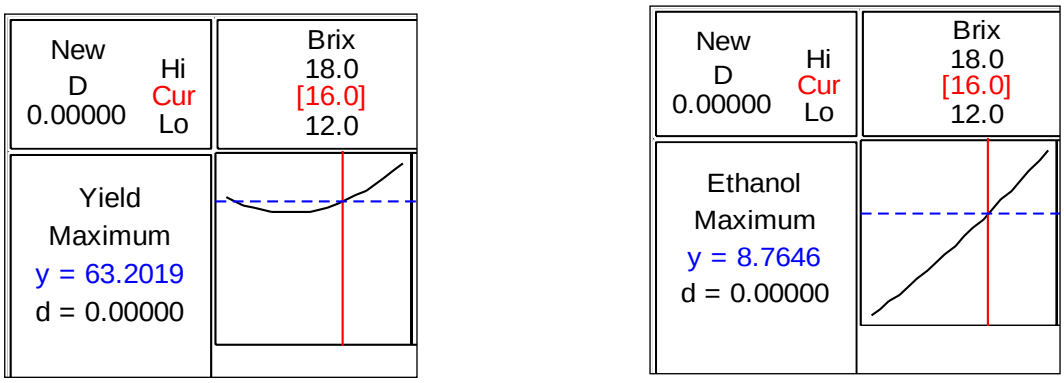
Source (مصدر التباين)	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Regression (الانحدار)	14	49.166	49.166	3.512	7.67	0
Linear (التأثير الخطي)	4	36.277	6.784	1.696	3.7	0.029
Square (التأثير المربع)	4	5.676	5.89	1.473	3.22	0.045
Interaction (التأثير التفاعلي)	6	7.213	7.213	1.202	2.62	0.064
Residual Error (الخطأ المتبقي)	14	6.411	6.411	0.458		
Lack-of-Fit	13	6.331	6.331	0.487	6.09	0.308
Pure Error (الخطأ الصافي)	1	0.08	0.08	0.08		

4-14- تأثير العوامل المدروسة في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود:

4-14-1- تأثير تركيز السكر الأولي في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود:

يؤثر تركيز السكر بشكل مباشر في معدل التخمير ونمو الأحياء في الوسط (Zabed *et al*., 2014)، وأشارت النتائج إلى زيادة نسبة الإيتانول الناتجة بزيادة التركيز الأولي للسكر في الوسط ويُفسر ذلك بزيادة تركيز السكريات القابلة للتخمر في الوسط، وبيَّنت نتائج التحليل الإحصائي كما هو موضَّح في الشكل (18) أن التركيز 16 % هو التركيز الأمثل لإنتاج الإيتانول من عصارة الذرة البيضاء السكرية، حيث أعطى 8.76 % (حجم/ حجم) من الإيتانول عند ضبط العوامل الأخرى عند مستوياتها المثلى (pH = 5 وزمن التخمير 24 ساعة ودون إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم)، ولكن استمرار زيادة التركيز إلى 18 % لم تؤد إلى زيادة معنوية في نسبة الإيتانول الناتجة ($p \leq 0.05$) ويُفسر ذلك بأن أي زيادة في تركيز

السكر أكثر من 16 % ستكون فائضة عن حاجة الخميرة ومعدل استقلابها للسكريات بل وسيكون لها أثراً سلبياً على الخلايا، حيث ستسبب ارتفاع الضغط الأسموزي، وبالتالي حدوث بلزمة للخلايا، وعليه فإن زيادة تركيز السكر لم تؤد إلى زيادة معنوية في نسبة الإيتانول الناتجة (Zabed *et al*., 2014)، وكذلك بالنسبة للمردود، بيَّنت النتائج أن التركيز 16% أعطى أفضل مردود (63.2 %)، وكانت كمية السكر المستهلك 13.7%، وذلك عند ضبط الشروط الأخرى عند مستوياتها المثلى (pH =5 وزمن التخمير 24 ساعة وحجم لقاح 3 % ودون إضافة اليوريا أو فوسفات ثنائية الأمونيوم)، وتوافقت هذه النتيجة مع Mutepe (2012)، حيث وجد زيادة في مردود الإيتانول مع ارتفاع تركيز السكر حتى 11 % وإن استمرار رفع التركيز أكثر من ذلك (44 %) لم تؤد إلى زيادة معنوية في نسبة الإيتانول.

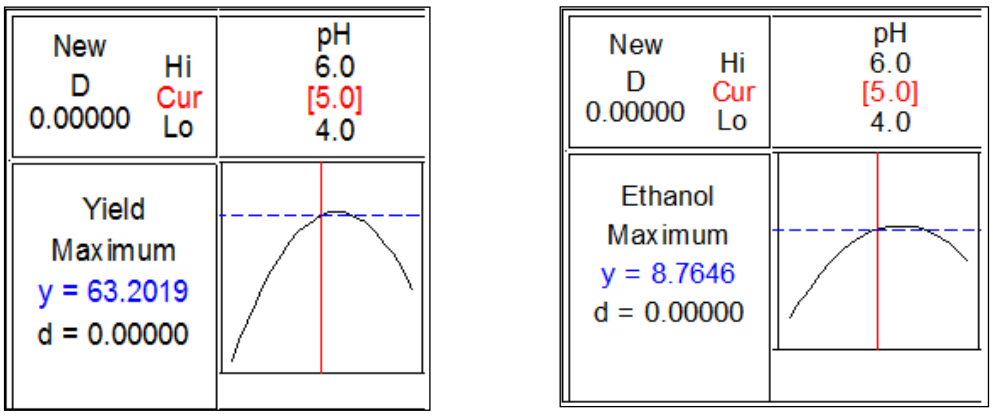


(a) (b)

شكل (18) تأثير تركيز السكر الأولي في نسبة الإيتانول (a) والمردود (b).

4-14-2- تأثير رقم الحموضة الأولي في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود:

تؤثر درجة الحموضة بشكل مباشر في الأحياء المخمِّرة في الوسط والعمليات الحيوية الخلوية لهذه الأحياء، حيث يؤثر تركيز شوارد الهيدروجين H^+ على نفاذية جدر الخلايا للعناصر المغذية وعمل الجهاز الإنزيمي، وبالتالي فإن ضبط رقم الحموضة يُعد من أهم عوامل زيادة المردود من الإيتانول (Lin *et al*., 2012). بيَّنت نتائج التحليل الإحصائي معنوية تأثير حموضة الوسط في نسبة الإيتانول الناتجة ($p \leq 0.05$)، وتشير النتائج المبيَّنة في الشكل (a-19) إلى قدرة الخميرة على التخمير ضمن المجال المدروس من رقم pH (4-5-6) ويُبيِّن أيضاً ازدياد نسبة الإيتانول الناتجة مع ارتفاع رقم الحموضة منpH =4 حتى pH =5، ثم انخفضت نسبة الإيتانول الناتجة بارتفاع رقم الحموضة إلى pH= 6، وبالنتيجة مثل رقم الحموضةpH=5 القيمة المثلى لإنتاج الإيتانول من عصارة الذرة البيضاء السكرية، حيث أعطت أفضل نسبة من الإيتانول (8.76 مل/100 مل)، وتطابق ذلك مع نتائج استخدام مولاس الشوندر حيث بيَّنت نقشو (2014) أن رقم الحموضة الأمثل لإنتاج الإيتانول من المولاس هوpH =5، وتقاربت هذه النتيجة مع نتائج عديد من الدراسات التي تناولت دراسة إنتاج الإيتانول الحيوي، حيث تراوح رقم الحموضة الأمثل pH بين4.5 و5.5، حيث وجد Mohammed-Dabo وآخرون (2011) أن زيادة رقم الحموضة من pH= 4.5 حتى pH= 5.1 ترافق مع زيادة نسبة الإيتانول الناتجة وإن استمرار رفع رقم الحموضة إلى pH= 5.5 أدى إلى انخفاضها، وبالتالي مثل رقم الحموضة pH =5.1 أفضل قيمة لإنتاج الإيتانول، في حين وجد Neelakandan وآخرون (2010) أن رقم الحموضة pH = 4.5 أعطى أفضل نسبة من الإيتانول، ويمكن أن تعزى هذه الاختلافات إلى السلالة المستخدمة، وبيَّنت نتائج التحليل معنوية العلاقة بين رقم الحموضة وتركيز الآزوت في تأثيرها في نسبة الإيتانول الناتجة.



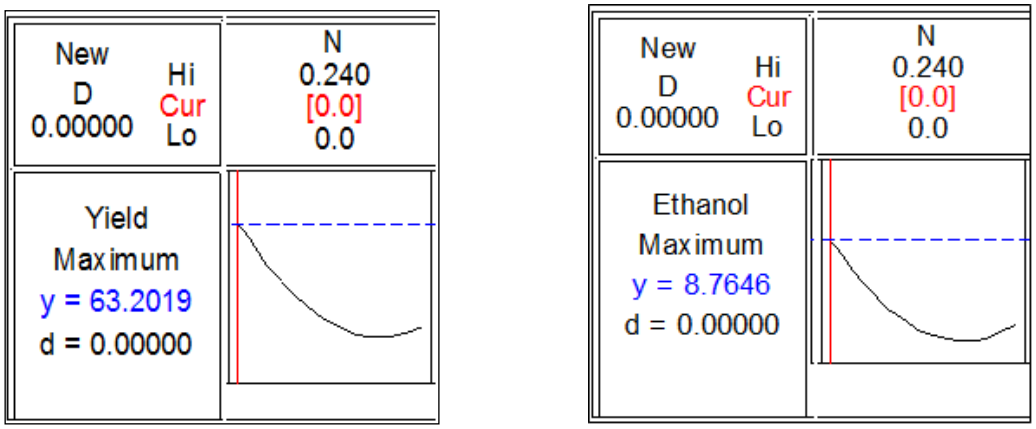
(b) (a)

شكل (19) تأثير رقم الحموضة في نسبة الإيتانول (a) والمردود (b).

3-14-4- تأثير إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود:

يختلفُ التركيب الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية باختلاف الصنف، ويُعد محتوى العصارة من الآزوت عنصراً هاماً في عملية التخمير إذ يدخل في تركيب الأحماض الأمينية التي تكون بروتينات الخميرة، وتشير نتائج التحليل الكيميائي لعصارة الذرة البيضاء السكرية المدروسة في هذا البحث إلى غنى هذه العصارة بالآزوت 4.4 غ/ ليتر بالمقارنة مع أصناف الذرة البيضاء الأخرى المنتشرة 0.6 غ/ ليتر (Laopaiboon *et al*., 2009)، ومولاس الشوندر السكري 3.4 غ/ ليتر (الجدول 10)، وبيَّنت نتائج الأمثلة أن عصارة الذرة السكرية أعطت أفضل نسبة من الإيتانول 8.76 % وأعلى مردود 63.2 % عند عدم إضافة خلطات من فوسفات ثنائية الأمونيوم واليوريا الشكل (20-a،b)، وأن إضافة مصدر آزوتي خارجي لم يؤد إلى زيادة نسبة الإيتانول الناتجة، وبالتالي عدم الحاجة لإضافة مصدر آزوتي خارجي، أما بالنسبة لمولاس الشوندر بيَّنت نقشو(2014) أنه أعطى أفضل نسبة من الإيتانول عند إضافة 0.12 % من اليوريا و 0.34 % من فوسفات ثنائية الامونيوم، وتُعد هذه النتيجة جوهرية وهامة في دراسة الجدوى الاقتصادية لإنتاج الإيتانول الحيوي من عصارة الذرة البيضاء السكرية، بحيث يُقلل ذلك من تكاليف

إضافة مصدر آزوتي مغذ خارجي، وبالنسبة لمولاس قصب السكر بيَّن Fadel وآخرون (2013) أن زيادة نسبة فوسفات ثنائية الأمونيوم من 0.7 % إلى 2.3 % أدى إلى زيادة نسبة الإيتانول من 8.5 % إلى 8.9 %، ولكن استمرار رفع تركيز فوسفات ثنائية الأمونيوم لم يؤد إلى زيادة نسبة الإيتانول وإنما بقيت النسبة 8.9 %.



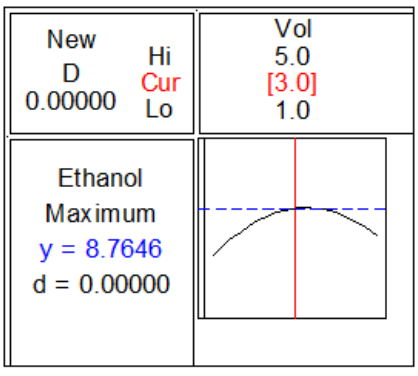
(a) (b)

شكل (20) تأثير تركيز فوسفات الأمونيوم في نسبة الإيتانول (a) والمردود (b).

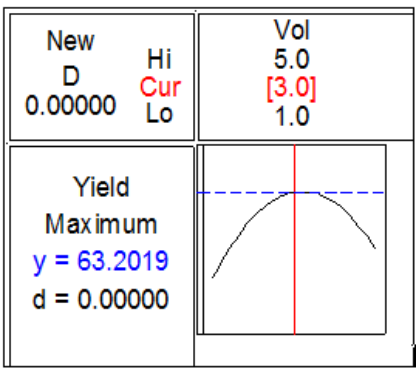
4-14-4- تأثير حجم اللقاح في نسبة الإيتانول الناتجة والمردود:

لا يؤثر حجم اللقاح معنوياً في نسبة الإيتانول النهائية الناتجة وإنما يؤثر في معدل استهلاك السكر في الوسط وبالتالي تقليص زمن التخمير وعليه يؤثر في الإنتاجية (Laopaiboon *et al*., 2009)، حيث أوضح Mohammed-Dabo وآخرون (2011) أن زيادة تركيز الخميرة من 1 غ/ ليتر حتى 5 غ/ ليتر لم تؤد إلى زيادة النسبة النهائية من الإيتانول وإنما أدى إلى تسارع معدل إنتاج الإيتانول خلال الساعات الأولى من التخمير، وأوضح Togarepi وآخرون (2012) أن زيادة تركيز الخميرة في وسط التخمير من 0.6غ إلى 8غ لكل 20غ من وسط التخمير أدى إلى زيادة معدل إنتاج الإيتانول وبعدها فإن زيادة التركيز إلى 10غ لم تؤد إلى زيادة نسبة الإيتانول.

بيَّنت نتائج الدراسة في هذا البحث أن زيادة حجم اللقاح من 1 % إلى 3 % أدى إلى زيادة نسبة الإيتانول وبعدها فإن زيادة حجم اللقاح إلى 5% لم تؤد إلى زيادة نسبته بعد 24 ساعة من التحضين، وبالتالي مثَّل حجم اللقاح 3 % الحجم الأفضل للحصول على أعلى نسبة من الإيتانول وذلك عند ضبط العوامل الأخرى عند (pH = 5، وزمن التخمير 24 ساعة، وتركيز سكر أولي 15 % ودون إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم) الشكل (21-a)، وكذلك بالنسبة للمردود من الإيتانول عند احتسابه على أساس كمية السكر المستهلك، فقد بيَّنت النتائج أيضاً أن حجم اللقاح 3 % أعطى أفضل مردود 63.2 % وذلك باستهلاك 137 غ/ ليتر من كمية السكر الأولي الكلي 150 غ/ ليتر الشكل (21-b)، توافقت هذه النتيجة مع عديد من الدراسات، حيث بيَّن Tahir وآخرون (2010) عند دراسة تأثير أحجام مختلفة من اللقاح تراوحت بين1 و5 % (حجم/ حجم) أن زيادة حجم اللقاح أدى إلى زيادة تدريجية في نسبة الإيتانول الناتجة وحُصل على أعلى نسبة من الإيتانول عند حجم لقاح 3%، وبعدها فإن أي زيادة في حجم اللقاح لم تؤد إلى زيادة معنوية في نسبة الإيتانول، وكذلك بيَّنت نقشو(2014) في تجارب أن حجم اللقاح 2.5 % أعطى أعلى نسبة من الإيتانول 7.2 % من مولاس الشوندر السكي، وأن زيادة حجم اللقاح إلى 7.5 % أدى إلى انخفاض نسبة الإيتانول إلى 6.96 %.



(a)



(b)

شكل (21) تأثير حجم اللقاح في نسبة الإيتانول (a) والمردود (b).

4-15- إنتاج الإيتانول من خلائط عصارة ساق الذرة السكرية مع مولاس الشوندر السكري.

4-15-1- أمثلة تركيز السكر الأولي لإنتاج الإيتانول الحيوي من خليط عصارة ساق الذرة السكرية مع مولاس الشوندر السكري:

دُرس تأثير ثلاثة تراكيز من السكر الأولي 14 و 16 و 18%، في مردود الإيتانول من خليط يحوي 50% مولاس شوندر سكري و50 % عصارة ذرة سكرية الجدول (27)، مع ضبط العوامل الأخرى عند مستوياتها المثلى pH = 5 وزمن التخمير 24 ساعة وحرارة تخمير 30°م ودون إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم، وسرعة دوران 200 دورة / دقيقة.

الجدول (27): مقارنة المردود من الإيتانول والخميرة عند استخدام ثلاث تراكيز من السكر الأولي.

الخلطة	مولاس شوندر سكري 50% و 50 % عصارة ذرة بيضاء سكرية		
تركيز السكر الكلي، %.	14	16	18
السكر المتبقي، %.	2.21 ± 0.75	3.4 ± 1.74	5.4 ± 0.53
السكر المستهلك، %.	11.79 ± 0.78 a	12.6 ± 1.9 b	12.6 ± 0.55 b
نسبة الإيتانول، (حجم / حجم).	6.5 ± 0.05 a	7.9 ± 0.04 b	7.91 ± 0.02 b
المردود %، (مل / 100غ سكر).	55.13 ± 0.04 a	62.69 ± 0.04 b	62.77 ± 0.01 b
الكتلة الحيوية، غ/ 100 مل.	0.13 ± 0.1 b	0.11 ± 0.1 a b	0.09 ± 0.02 a

النتيجة تمثل متوسط ثلاث مكررات، وتشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

بيَّنت النتائج ارتفاع نسبة الإيتانول الناتجة والمردود معنوياًعند زيادة تركيز السكر الأولي في الوسط من 14 حتى 16 %، وكذلك ازدادت كمية السكر المستهلك بشكل معنوي، ولكن استمرار زيادته حتى 18% لم تؤد إلى زيادة معنوية في نسبة الإيتانول أوالمردود أو كمية السكر المستهلك، وحيث أن زيادة تركيز السكر يحتاج لزمن أطول للتخمير، وعلى أية حال فإن التراكيز العالية تسبب ضغط أسموزي وبلزمة للخلايا وبالتالي موتها، وبالتالي مثَّل تركيز السكر الأولي 16% التركيز الأمثل لإنتاج الإيتانول من خلائط عصارة الذرة البيضاء السكرية مع مولاس الشوندر السكري، ومن جهة أخرى فإن زيادة التركيز من

14 إلى 16% أدى إلى انخفاض الكتلة الحيوية الناتجة من 0.13 غ/ 100 مل إلى 0.09 غ/ 100 مل ويعود ذلك لتأثير Carbtree، حيث أن تركيز السكر المرتفع يُثبط إنزيمات التنفس وبالتالي يُثبط النمو ويُشجع مسار التخمير.

4-15-2- نسب الإيتانول الناتجة من الخلائط المدروسة:

حُضرت الخلائط وأجريت تجارب التخمير في دوراق 500 مل بواقع ثلاث مكررات لكل تجربة وبتركيز سكر أولي 16%، ورقم حموضة pH =5، وحجم لقاح 3 %، وزمن تخمير 24 ساعة، وسرعة دوران 200 دورة / الدقيقة، ودرجة حرارة 30° م كما هو موضح في الجدول التالي رقم (28):

الجدول (28): نسب الإيتانول الناتجة من الخلائط المدروسة.

الخلطات	A	B	C	D	E
تركيز السكر الكلي %، غ/ 100 مل.	16				
السكر المتبقي %، غ/ 100 مل.	3.1 ± 0.3	2.92 ± 0.2	2.84 ± 0.45	2.82 ± 0.52	2 ± 0.32
السكر المستهلك %، غ/ 100 مل.	12.9 ± 0.49 a	13.08 ± 0.24 b	13.16± 0.79 b	13.18 ± 0.73 b	14± 0.35 c
نسبة الإيتانول، (حجم /حجم).	6.8 ± 0.01 a	7.4± 0.06 a b	7.9 ± 0.04 a b	8.31 ± 0.03 a b	8.9 ± 0.04 b
المردود %، (مل / 100غ سكر).	52.71± 0.009 a	56.57 ± 0.05 b	60.03 ± 0.03 c	63.05 ± 0.02 d	63.57 ± 0.03 d
الكتلة الحيوية، غ/ 100 مل.	0.8 ± 0.3	0.1 ± 0.26	0.11 ± 0.1	0.14 ± 0.2	0.15 ± 0.06

النتيجة تمثل متوسط ثلاث مكررات، وتشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد إلى وجود فروق معنوية على مستوى 1%.

ازداد المردود من الإيتانول بشكل تدريجي ومعنوي مع زيادة نسبة عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية المضافة إلى مولاس الشوندر السكري، حيث أعطت الخلطة A، والتي لم تحتو على أي نسبة من عصارة الذرة البيضاء السكرية أقل نسبة 6.8 % (حجم/ حجم) وأقل مردود 52.71 % (حجم/ وزن) من الإيتانول، ثم ازدادت هذه النسبة تدريجياً حتى أعطت عصارة الذرة (الخلطة E) أعلى نسبة 8.9 % (حجم/ حجم)، وأعلى مردود 63.57 % (حجم/ وزن)، وأعطت الخلطة (C) 7.9 % إيتانول بزيادة قدرها 0.7 % عن المولاس المدعَّم باليوريا وفوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.12 % و 0.34 %، على التوالي.

الفصل الخامس

الاستنتاجات

Conclusions

5- الاستنتاجات Conclusions:

1- أثبتت الدراسة إمكانية استخدام عصارة ساق نبات الذرة البيضاء السكرية (Sugar Sorghum) كركيزة لإكثار خميرة الخباز *S. cereviseae* ذات الأهمية الغذائية والاقتصادية والصناعية، ولإنتاج الإيتانول الحيوي كمصدر للطاقة صديق للبيئة.

2- الشروط المثلى للحصول على أعلى كتلة حيوية للخميرة (6.9 غ / ليتر) من عصارة الذرة البيضاء السكرية هي: تركيز السكر (5.3 %)، ورقم الحموضة (pH=5)، وسرعة الدوران (250 دورة/ الدقيقة)، وحجم العصارة (500 مل في دورق 1 ليتر)، وزمن التخمير (28 ساعة)، وحرارة التخمير (30° م)، ودون الحاجة لإضافة مصدر خارجي للأزوت.

3- الشروط المثلى للحصول على أعلى نسبة من الإيتانول (8.76 %) (حجم/ حجم) من عصارة الذرة البيضاء السكرية هي: تركيز السكر الأولي (16 %)، ورقم الحموضة (pH=5)، وحجم اللقاح (3 %)، وبعد 24 ساعة من التخمير، ودون الحاجة لإضافة مصدر خارجي للآزوت.

4- ازداد مردود الكتلة الحيوية عند نقل التجارب من الدوارق الزجاجية إلى المفاعل الحيوي المخبري، حيث أعطت عصارة الذرة البيضاء السكرية 5.9 غ / ليتر من الخميرة وأعطى المولاس 4.7 غ / ليتر وبعد 6 ساعات من التخمر.

5- أكدت الدراسة على الجدوى الاقتصادية من استخدام عصارة الذرة البيضاء السكرية في إكثار خميرة الخباز وإنتاج الإيتانول الحيوي، حيث أعطت أعلى كتلة حيوية من الخميرة وأعلى نسبة من الإيتانول دون الحاجة للتدعيم بمصدر آزوتي خارجي.

6- أثبتت الدراسة على إمكانية الاستعاضة عن إضافة اليوريا وفوسفات ثنائية الأمونيوم لتحسين خواص مولاس الشوندر السكري، وذلك بتحضير خليط 50 % من عصارة الذرة البيضاء السكرية و50 % من مولاس الشوندر السكري، حيث أعطت هذه الخلطة 4.31 غ/ ليتر من الخميرة و7.9 % إيتانول بزيادة قدرها 0.96 غ/ ليتر عن المولاس عند إضافة فوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.5 % لإنتاج الخميرة، وبزيادة قدرها 0.7 % عند إضافة اليوريا بنسبة 0.12 % والفوسفات ثنائية الأمونيوم 0.34 % لإنتاج الإيتانول، وازدادت الكتلة الحيوية ونسبة الإيتانول مع ازدياد نسبة عصارة الذرة السكرية في الخلطة، حيث أعطت الخلطة (E)، التي احتوت على 100% عصارة الذرة البيضاء السكرية، أعلى كتلة حيوية وأعلى نسبة إيتانول مقارنةً بباقي الخلطات المدروسة.

6- التوصيات والمقترحات Recomindations:

1- تطبيق الشروط المثلى المستحصل عليها في هذه الدراسة على المستوى الصناعي، بالطرائق المستمرة ونصف المستمرة، لإنتاج الكتلة الحيوية لخميرة الخباز بعد إجراء تجارب بأحجام أكبر ودراسة الجدوى الاقتصادية.

2- إجراء تجارب تخمير باستخدام أحياء دقيقة أُخرى منتجة للإيتانول مثل *Zymomonas mobilis* وباستخدام أوساط خليطة.

3- إجراء تجارب موسعة تمهيداً لإدخال محصول الذرة البيضاء السكرية في الخطة الزراعية، كنبات واعد صديق للبيئة ومتحمل لظروف الجفاف ومتعدد الاستعمالات، على ضوء النتائج المبشِّرة لاستخدام عصارة هذا النبات.

المراجع References:

الحاج تركي، ديمة، وعدنان قنبر، ومجد الجمالي، وفواز العظمة.2010. الذرة البيضاء السكرية محصول بديل واعد لإنتاج السكر والوقود الحيوي. مؤتمر تحديات تحسين الإنتاجية وسبل تطويرها في القطاع الزراعي، اسبوع العلم الخمسين، جامعة الفرات، الصفحات 264-270.

الحاج تركي، ديمة.2012. التوصيف الشكلي والجزيئي لأصناف مدخلة من الذرة البيضاء السكرية وتحديد التتابعات النكليوتيدية لمورثة تصنيع السكر *SuSy2*، أطروحة ماجستير، جامعة دمشق، عدد الصفحات 148.

الخفاجي، زهرة محمود. 2008. التقنية الحيوية الميكروبية، توجهات جزيئية، معهد الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية، جامعة بغداد، عدد الصفحات761 .

الخياط، غسان حمادة.1990. الصناعات الميكروبيولوجية (الجزء النظري)، منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة، عدد الصفحات 311.

المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية.2011. الجمهورية العربية السورية، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، مديرية التخطيط.

اليماني، عصام محمد.2009. الوقود الحيوي وتحديات الزراعة والغذاء والطاقة، المؤتمر الرابع حول التقنيات الحديثة في الزراعة، القاهرة، ص 897-900.

باشا، ابراهيم، وأديب فالح، وأحمد دباغ. 1990. الصناعات الميكروبيولوجية (الجزء النظري)، منشورات جامعة حلب، عدد الصفحات 583.

جلال، دينا.2013. إنتاج الوقود الحيوي في إطار الاقتصاد العالمي مع إشارة خاصة بالحالة المصرية، مجلة البحوث الاقتصادية العربية، (13)، 34-72.

شقير، شذا.2011. تأثير عمليات تصنيع خميرة الخباز في صفاتها الجرثومية والكيميائية والفيزيائية، أطروحة ماجستير، جامعة دمشق، عدد الصفحات 93.

صادق، شريف حسن. 2005. الأحياء الدقيقة الصناعية (الجزء النظري)، منشورات جامعة البعث، كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، عدد الصفحات 342.

صادق، شريف حسن، و روعة حناوي.2010. دراسة تأثير بعض المكونات الحيوية في نمو خميرة الخبز بالطريقة نصف المستمرة، مجلة الانبار للعلوم الزراعية، 8(4) 194-207.

طحلة، محمد خير، وسليمان المصري. 1993. تكنولوجيا وكيمياء سكر، منشورات جامعة دمشق ،عدد الصفحات288.

فضول، جودة، و وليد نفاع.2006. المرجع في علم الفطريات، منشورات جامعة دمشق، كلية لهندسة الزراعية، عدد الصفحات،1055.

منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة: الطاقة الحيوية والأمن الغذائي (2008):
(http://www.unwater.org/downloads/i0142a02.pdf).

نقشو، نسرين. 2014. أمثلة إنتاج الكحول الحيوي من المولاس باستخدام سلالات من خميرة *Sacharomyces* Sp. وبكتيريا *Zymomonas mobilis*، أطروحة دكتوراه، جامعة دمشق، عدد الصفحات 174.

Alberts, B., A. Johnson., J. Lewis., M. Raff., K. Roberts and P. Walter. 2008. Molecular biology of the cell. Fifth ed, New York: Garland Science.

Almeida, M and C. Pais. 1996. Leavening Apility and freeze tolerance of yeasts isolated from traditional corn and rye bread doughs. Appllied and Environmental Microbiology. 62(12):4401- 4404.

Almodares, A., A. Sepahi and M. Shirvani. 1997. Sweet sorghum cultural practices in Iran. Proceedings of the First International Sweet Sorghum Conference, Beijing. China (Li Dajue. ed.): Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, 175-183.

Almodares, A and M. R. Hadi. 2009. Production of bioethanol from sweet sorghum: A review. Afr. J. Agric. Res. 4 (9): 772 - 780.

Amela, A. 2010. Biofuels versus food production: Does biofuels production increase food prices?. 36(4) 2070-2076.

Anglani, C. 1998. Sorghum carbohydrates - A Reviw. Plant Food Human Nutr. 52: 77-83.

Annan, N.T., L. Poll., S. Sefa-Dedeh., W.A. Plahar and M. Jakobsen. 2003. Volatile compounds produced by Lactobacillus fermentum, *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida krusei* in single starter culture fermentations of Ghanaian maize dough. J. Appl. Microbiol. 94(3):462-474.

Asli, M.S. 2010. A study of some efficient parameters in batch fermentation of ethanol using *Saccharomyces cereviciae* SC1 extracted from fermented Siahe Sardasht Pomace. African Journal of Biotechnology. 9(20): 2906-2912.

Audilakshmi, S., A.K. Mall., M. Swarnalatha and N. Seetharama. 2010. Inheritance of sugar concentration in stalk (Brix), sucrose content, stalk and juice yield in sorghum. Biomass Bioenerg. 34:813-820.

Azmuda, N., N. Jahan and A. Khan. 2006. Production and comparison of indigenous and commercial baker`s yeasts. Bangladesh J. microbial. 23(2): 89-92.

Bapat, P.R., H.D. Jadhav., S.L.Gaur., C.B. Salunkhe., U.M. Ingle., D.N. Kulkarni and S.S .Throat.1987. Sweet sorghum cultivars for production of qualitysyrup and jaggery in Maharashtra. Technology and applications for alternative uses of sorghum. Proc. Of the National Seminar Parbhani aharashtra India. 2 (3): 203-206.

Barnett, J.A. 2003. Beginnings of microbiology and biochemistry: the contribution of yeast research. Microbiology. 149 (3): 557- 567.

Bartens, A. 2005. International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis Methods. Book 2005. Dr. Albert Bartens K.G, Berlin, 431.

Bekatorou, A., C. Psarianos and A.A. Koutinas. 2006. Production of food grade yeasts. Food Technol Biotechnol. 44 (3): 407- 415.

Blum, A., H. Feldhay and Z. Dor .1975. Sweet sorghum for sugar production. Sorghum Newsl. 18: 72.

Blum, A., H. Feldhay and Z. Dor.1977. Sugar production potential of sweet sorghum. Division of Scientific Publications. Special publication No. 83.

Blum, A. 1979. Genetic improvement of drought resistance in crop plants: a case for sorghum. In: 'stress Physiology in crop plants' H. Mussell and R. Staples, Eds, John wiley and sons. Inc., New York, USA. 429 - 445.

Boswell, C.D., A.W. Nienow and C.J. Hewitt. 2002. Studies on the effect of mechanical agitation on the performance of brewing fermentations: fermentation rate, yeast physiology, and development of flavor. J Am Soc Brew Chem. 60(3): 101-106.

Broadhead, D.M. 1969. Sugar production from sweet sorghum as affected by planting date, after ripe harvesting and storage. Agronomy Journal. 61: 811-812.

Bryan, W.L. 1990. Solid state fermentation of sugars in sweet sorghum. Enzyme Mircrobiology Technology. 12(6): 437-442.

Camacho-Ruiz, L., N. Pérez-Guerra and R.P. Roses. 2003. Factors affecting the growth of *Saccharomyces cerevisiae* in batch culture and in solid state fermentation. Electron J Environ Agric Food Chem. 2(5): 531-542.

Channappagoudar, B. B., N. R. Biradar., J. B. Patil and S. M. Hiremath. 2007. Assessment of sweet sorghum genotypes for cane yield, Juice Characters and sugar levels. Karnataka J. Agric. Sci. 20 (2): 294-296.

Chapman, S.R and L.P. Carter. 1976. Crop production, principle and practices. San Francisco: Published by W. H. Freeman & Company. pp. 431- 441.

Choudhari, S.D. 1988. Evaluation of high-energy sorghum lines. Paper presented to XVIII All India Sorghum Workshop held at Kanpur, India.

Choudhari, S.K., D.N. Kulkarni., A.D. Chundrawar and N.G.P. Rao. 1987. Evaluation and selection of diverse sorghum genotypes for high energy,

grain and biomass production. In: Technology and Applications for Alternative uses of sorghum proceedings of the National Seminar Parbhani, Maharashtra. India, Marathwad Agricultural University. pp. 160-168.

Dajue, L and L. Fusun. 1992. Sweet Sorghum and its Utilization, Publishing House of Sciences & Technology, Beijing, Republic of China.

D'Amato, D., R. C., Maria, A.D.N. Matteo and S. Milena. 2006. Effects of temperature, ammonium and glucose concentrations on yeast growth in a model wine system. IJFST. 41(10):1152-1157.

Damiani, P., M. Gobbetti., L. Cossignani., A. Corsetti., M.G. Simonetti and J. Rossi. 1996. The sourdough microflora: characterization of hetero- and homo fermentative lactic acid bacteria, yeasts, and their interactions on the basis of the volatile compounds produced. Lebensm Wiss Technol. 29:63-70.

Davis, L., Y. Jeon., C. Svenson., P. Rogers, J. Pearce and P. Peiris. 2006. Evaluation of Zymonas mobilis -bassed ethanol production from a hydrolysed waste starch stream. Biomass and bioenergy. 30: 809-814.

Dayakar, Rao. B., C.V. Ratnavathi., K. Karthikeyan., P.K. Biswas., S.S. Rao. B.S. Vijay Kumar and N. Seetharama. 2004. Sweet sorghum cane for bio-fuel production: A SWOT analysis in Indian context, National Research Centre for Sorghum. Rajendranagar, Hyderabad, India. p 20.

Doggett, H. 1988. Sorghum, the second ed. John Wiley and Sons, New York.

Edwards, G.E. and D.A. Walker. 1983. C_3, $_{C4}$: mechanisms, and cellular and environmental regulation, of photosynthesis. Oxford: Blackwell Scientific publications. p 548.

El-Shafai, A., M. Bekheet and K. El-Aref. 2005. Effect of biological and mineral nitrogen fertilization on sweet sorghum (*Sorghum bicolor* L.). Egypt. J. Appl. Sci. 20: 464-483.

Espinel, A., L. Stockman., G. Roberts., D. Pincus. J. Pollack and J. Marler .1998. Comparison of RAPID Yeast plus system with API 20 C system for

identification of common new and emerging yeast pathogens. Journal of Clinical Microbiolog. 36: 883-886.

Esteve, B., M.J. Peris., E. Garcia., F. Uruburu and A. Querol. 2001. Yeast population dynamics during the fermentation and biological Aging of sherry wines. Applied and Environmental Microbiology. 67: 2056-2061.

Esteve-Zarzoso, B., P. Manzanares., D. Ramón and A .Querol. 1998. The role of non-*Saccharomyces* yeasts in industrial winemaking. Int Microbiol. 1(2):143-148.

Fadel, M., A. A. Keera., E. E. Mouafi and T. Kahil. 2013. High level ethanol from sugar cane molasses by a new thermotolerant *Saccharomyces cerevisiae* strain in industrial scale. Biotechnology Research International. 2013(1):1-7.

FAO /HLPE. 2013. Biofuels and Food Security. A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security, Rome, 2013.

FAO/HLPE. 2011. Price volatility and food security. A report by the High Level Panel of Experts on Food Security and Nutrition of the Committee on World Food Security, Rome, 2011.

Ferreira, J.M., A.R. Viana and B.F. Sousa-Filho. 1982. Preliminary evaluation of cultivars and hybrids of sweet sorghum in North Fluminense. Pesquisa em and amento PESAGRO-RIO. (9): 3.

Fischer, G., S. Prieler., H. Velthuizen., G. Berndes., A. Faaij., M. Londo and M. Wit. 2010. Biofuel production potentials in Europe: sustainable use of cultivated land and pastures, Part II: Land use scenarios. Biomass and Bioenergy. 34(2): 173-187.

Ganesh, S., K.A.K. Fazlullah., Suresh, M and N. Senthiil.1995. Character association for alcohol yield in sweet sorghum. Madras Agricultural Journal. 82 (5): 361-363.

Geng, S., F.J. Hills., S.S. Johnson and R.N. Sah. 1989. Potential yields and on farm ethanol production cost of corn, sweet sorghum, fodder beet, and sugarbeet. J. Agron. Crop Sci. 162(1): 21-29.

Goldemberg, J. 2008. The Brazilian biofuels industry. Biotechnology for Biofuels. 1: 6. University of São Paulo, Brazil.

Goldemberg, J., C. Teixeira, S., P.M. Nastari and O. Lucon. 2004. Ethanol learning curve the Brazilian experience. Biomass and Bioenergy. 26 (3): 301-304.

Grassi, G. 2001. Sweet sorghum one of the best world food-feed-energy crop. Latin America Thematic Network on Bioenergy lament. Published by ETA –Florence and WIP-Munich in the framework of LAMNET Thematic Network funded by the European Commission, DG Research, Programme "Confirming the 14 Trials on an innovative technology for Bioethanol international role of Community Research" Project no. ICA4-CT-2001-10106.

Guthrie, C and G.R. Fink. 1991. Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology, Meth. Enz. First ed. Vol: 194.

Herskowitz, I.1988. Life cycle of the budding yeast *Sacharomyces cereviseae*, Microbiological reviews, 52(4):536-553.

Hutkins, W. R. 2006. Microbiology and Technology of Fermented Foods, Wiley-Blackwell.

Huxley. A .1871. Discourses: Biological & Geological (volume VIII): Yeast. Collected Essays. Retrieved 2009-11-28.

ICRISAT and FAO.1996. The World Sorghum and Millet Economies: Facts, trend and outlook. ISBN 92-5-103861-9.

Inparuban, K., S. Vasantharuba., S. Balakumar and V. Arasaratnam. 2009. Optimization of a culture conditions for Baker's yeast cell mass production - A preliminary study. JSc - EUSL. 3(1): 34-45.

Jaber, A.M.Y., N. Mehanna and Sh.Sultan. 2009. Determination of ammonium and organic bound nitrogen by inductively coupled plasma emission spectroscopy. Talanta. 78(4- 5): 1298-1302.

Jadhav, M.M., B.A. Chougule., U.D. Chavan and R.N. Adsule. 1994. Assessment of juice quality in the improved sweet sorghum varieties. Journal of Maharashtra Agricultural Universities. 19 (2): 233-235.

Jiru, T.M. 2009. Evaluation of yeast biomass production using molasses and supplements, Master thesis. Addis Ababa University, Faculty of Science. p70.

Jones, R. C and J. S. Houghthe. 1970. Effect of temperature on the metabolism of Baker's yeast growing on continuous culture. J. gen. Microbiol. 60(1): 107-116.

Kim, K.J., D. Yoshiharu and A. Hideki. 2006. Effects of residual metal compounds and chain-end structure on thermal degradation of poly (3-hydroxybutyric acid). Polymer Degradation and Stability. 1(91): 769 − 777.

Kundiyana, D.K., D.D.Bellmer., R.L.Huhnke., M.R. Wilkins and P.L. Claypool. 2010. Influence of temperature, pH and yeast on in-field production of ethanol from unsterilized sweet sorghum juice. Biomass and Bioenergy. 34(10): 1481-1486.

Landry, C.R., J.P. Townsend., D.L. Hartl and D. Cavalieri. 2006. Ecological and evolutionary genomics of *Saccharomyces cerevisiae*. Molecular Ecology.15: 575-591.

Laopaiboon, L., S. Nuanpeng., P. Srinophakun., P. Klanrit and P. Laopaiboon. 2009. Ethanol production from sweet sorghum juice using very high gravity technology: Effects of carbon and nitrogen supplementations. Bioresource Technology. 100(18): 4176 - 4182.

Liden, G. 2002. Understanding the bioreactor. Bioprocess and biosystems engineering. 24, 273-279.

Lima, G.S. de. 1998. Estudo 117esistencia da 117esistencia a' seca no sorgo forrageiro (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) em differentes estadios de desenvolvimento. Recife: UFRPE. p 128.

Lin, Y., W. Zhang., C. Li., K. Sakakibara., S. Tanaka and H. Kong. 2012. Factors affecting ethanol fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* BY4742. Biomass and Bioenergy. 47: 395- 401.

Liu, L., J. Sun., C. Cai., S. Wang., H. Pei and J. Zhang. 2009. Corn stover pretreatment by inorganic salts and its effect on hemicellulose and cellulose degradation. Bioresource Technology. 100 (23): 5865-5871.

Lodder, J. 1974. The Yeast: A taxonomic study. 2nd ed. North Holland publishing company Amesterdam, London. p 1-1385.

Maiti, R.K and Ross, F. L. 1990. Variability in biochemical characters of glossy, sorghum seedlings under irrigated and water stress conditions. Sorghum newsletter. 31:52.

Makanda, I., P. Tongoona and J. Derera. 2009. Quantification of genotypic variability for stem sugar accumulation and associated traits in new sweet sorghum varieties. Afric.Crop Sci. Conf. Proc. 9: 391-398.

Mallikarjun, H., M.D. Kachapur and H.B. Babalad. 1997. Effect of plant population levels on the quality characters of the sweet sorghum genotypes during summer. Karnataka Journal of Agricultural Sciences. 10 (1): 5-9.

Mann, J.A., C.T. Kimber and F.R. Miller.1983. The Origin and Early Cultivation of Sorghums in Africa. Texas Agriculture Experiment Station, College Station. TX, USA. Bulletin 1454.

Marina, K. 2015. Morphological and physiological characteristics of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* cells differing in the life span. Master thesis, University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry.p 81.

Massacri, A., A. Battistelli and F. Loreto. 1996. Effect of drought stress on photosynthetic characteristics, growth and sugar accumulation of field grown sweet sorghum. Australian Journal of Plant Physiology. 23(3): 331-340.

Mc Bee, G.G., R.A. Creelman and F.R. Miller. 1988. Ethanol yield and energy potential of stems from a spectrum of sorghum biomass types. Biomass. 17(3): 203-211.

Miller, G. L. 1959. Use of dinitro salicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31(3):426-428.

Mohammed-Dabo, I. A., I. G. Mohammed and K. Muazu. 2011. Optimum hydrolysis-fermentation parameters for the production of bioethanol from the Nigerian stem juice of Sweet sorghum. Petroleum Technology Development Journal. 1: 1-10.

Mokadem, S. H. A., M. A. Salem and M.T.N. El-Hoda. 1999. Evaluation of yield and its components as well as syrup production of some sweet sorghum varieties (*Sorghum bicolor* L. *Moench*) grown under middle Egypt environmental conditions. Minia J. Agric. Res. Develop. 19: 207-218.

Mutepe, R.D. 2012. Ethanol production from sugar sorghum. Master thesis, North -West University. p149.

Neelakandan, T., G. Usharani and C. Sekar. 2010. Bio-ethanol production from cashew apple juice using *Saccharomyces cerevisiae*. International Journal of Current Research. 11: 151-153.

Newton, R. J., S. Bhaskaran., J. D. Puryer and R. H. Smith .1986. Physiological Changes in cultured sorghum cells in response to induced water stress. Plant Physiology. 81(2): 626-629.

OPEC. 2011. Organization of the Petroleum Exporting Countries. Annual Statistical Bulletin. p 22-23 and p46.

Ottman, M. J., B.A. Kimball., Jr. PJ. Pinter., G. W. Wall., R.L. Vanderlip, S.W. Leavitt., R.L. LaMorte., A.D. Matthias and T.J. Brooks. 2001. Elevated CO_2 increases sorghum biomass under drought conditions. New Phytologist. 150 (2): 261- 273.

Painting, K. and B. Kirsop. 1990. Quick method for estimating the percentage of viable cells in a yeast population using methylene blue staining. World J Microbiol Biotechnol. 6 (3):346-7.

Paramithiotis, S., M.R.A. Müller., M.A. Ehrmann., E. Tsakalidou., H. Seiler., R .Vogel and G. Kalantzopoulos. 2000. PolyPhasic identification of wild yeast strains isolated from Greek sourdoughs. Syst Appl Microbiol. 23 (1):156-164.

Parvatikar, S.R., T.V. Manjunath and V. Koti.1991. Preliminary screening for sweet stalk sorghum. Journal of Maharashtra Agricultural Universities. 16 (3): 435.

Phillips, T .2009. Planets in a Bottle: More about yeast". http://science.nasa.gov/newhome/headlines/msad16mar 99-1b.htm.

Prescott, S.C and C.G. Dunn. 1959. Industrial Microbiology, Third edition, McGraw-Hill, New York. p 831- 945.

Prieler, S., G. Fischer and H. Velthuizen. 2013. Land and the food-fuel competition: insights from modeling, Wiley Interdisciplinary Reviews: Energy and Environment. 2 (2):199-217.

Putnam, D.H., W.E. Lueschen., B.K. Kanne and T.R. Hoverstad. 1991. A comparison of sweet sorghum cultivars and maize for ethanol production. Journal of Production Agriculture. 4 (3): 377-381.

Rao, D. V. N., G. S. R. Damodaran and A. V.Parthasarathy.1971. Studies on the presence of total solids in different stages of sorghum crop. Madras Agricultural Journal. 58 (7): 662-664.

Rao, R.S., R.S. Prakasham., K.K. Prasad., S. Rajesham., P.N. Sarma and L.V. Rao. 2004. Xylitol production by *Candida* sp.: parameter optimization using taguchi approach. Process Biochemistry. 39 (8): 951-956.

Reddi, G. S. 2006. Studies on production potential of sweet sorghum [*sorghum bicolor* (L.) *moench*] genotypes for grain and ethanol production as influenced by management practices. PhD. (agri) thesis, University of Agricultural sciences, dharwad.

Reddy, B.V., S. Ramesh., P. Sanjana., B. Ramaih., P.M. Salimath and K. Rajashekar. 2005. Sweet sorghum−A potential alternative raw material for bio-ethanol and bio-energy. Journal of SAT Agricultural Research. 1(1):1-8.

Reddy, B.V., A.A. Kumar and P.S. Reddy. 2007. Sweet sorghum: A dry land adapted pro-poor Bioethanol feedstock yielding both grain and fuel. Paper presented at USDA Biofuel Conference, August 2007, At Minneapolis, Minnesota, USA.

Renewable Fuels Association. 2016. http://www.ethanolrfa.org/resources/industry/statistics/#1454098996479-8715d404-e546.

Rincon, A.M., A.C. Codon., F. Casrtejon and T. Benitez. 2001. Improved properties of baker's yeast mutants resistant to 2-Deoxy-D Glucosep Appl Environ Microbiol. (67):4279-4285.

Ringbom, K., A. Rothberg and B.Saxen.1996. Model-based automation of baker's yeast production. J.Biotechnol. 51(1):73-82.

Ritter, K.B., D.R. Jordan., S.C. Chapman. I.D. Godwin., E.S. Mace and C.L. McIntyre. 2008. Identification of QTL for sugar related traits in a sweet grain sorghum (*Sorghum bicolor* (L). *Moench*) recombinant inbred population. Mol Breeding. 22 (3): 367-384.

Saballos, A. 2008. Development and utilization of sorghum as a bioenergy crop. In: W. Vermerris (ed). Genetic improvement of bioenergy crops. Springer Science and Business Media, LLC, New York, NY, USA. p 211- 248.

Saheb, S.D., H.K. Singh and C.B. Singh 1997. Effect of plant population and nitrogen on biomass and juice yield of sweet sorghum (*Sorghum bicolor*). Indian Journal of Agronomy. 42 (4): 634-636.

Satyanarayana, T and G. Kunze. 2009. Yeast Biotechnology. California Agriculture technology Institute.

Schaffert, R.E and R.A. Borgonovi. 1980. Sorghuma opcao para a producao de alimentos energia. A Granja. 36: 60-64.

Seesharam, N., F.R. Bidinger., K.N. Rao., K.S. Gill and M. Madhuri. 1987. Effect of pattern and severity of moisture - deficit stress on stalk - rot incidence in sorghum. Field Crops Research. 15(3-4): 289.

Serio, M. D., R. Tesser and E. Santacsaria. 2001. A kinetic and mass transfer model to simulate the growth of baker's yeast in industrial bioreactors. Chem. Eng. J. 82 (1-3):347-354.

Sheoran, A., B. Yadav., P. Nigam and D. Singh. 1998. Continuous ethanol production from sugar cane using a column reactor of immobilized *Saccharomyces cerevisiae* HAU-1. J.Basic Microbiol. 38(2):123-128.

Shin, F., Y. Sendo., S.H. Nakaguchi and T. Hashimoto .2001. Multiplex PCR using internal transcribed spacer1 and 2 regions for Rapid detection and identification of yeast strains. Journal of Clinical Microbiology, 39: (10) 3617-3622.

Smith, G.A and D.R. Bauxton. 1993. Temperate zone sweet sorghum ethanol production potential. Bioresource Technology. 43(1): 71-75.

Smith, G.A., M.O. Bagby., R.T. Lewellan., D.L. Doney., P.H. Moore., F. J. Hills., L. G. Campbell., G. J. Ogaboam., G.E. Coe and K. Freeman. 1987. Evaluation of sweet sorghum for fermentable sugar production potential. Crop Science. 27(4): 788-793.

Soltani, A and A. Almodares. 1994. Evaluation of the investments in sugar beet and sweet sorghum production. National Convention of Sugar production from Agricultural Products, Shahid Chamran University, Alwaz, Iran.

Stanbury, P. F., A.Whitaker and S.J. Hall.1995. Principles of Fermentation Technology, University of Hertfordshire, Oxford, UK, 2nd edition, pp.357.

Suh, S.O., J.V, McHugh., D.D .Pollock and M. Blackwell . 2005. The beetle gut: a hyperdiverse source of novel yeasts. Mycological Research. 109 (3): 261-65.

Tahir, A., M .Aftab and T. Farasat. 2010. Effect of cultural conditions on ethanol production by locally isolated *Saccharomyces cereviciae* BIO-07. Journal of Applied Pharmacy. 3(2): 72-78.

Thompson, G.D. 1976. Water use by sugar cane, Afr. Sugar J. 60: pp. 598-600 and 629-635.

Timilsina, G and Sh. Ashish. 2010. Biofuels: Markets, Targets and Impacts. The World Bank policy research working paper, 5364, p 2.

Tizard, I. R., H. Robert., B.H. McAnalley and M. C. Kamp. 1989. The biological activities of mannans and related complex carbohydrates. Mol. Biother. 1 (6): 290-296.

Togarepi, E., C. Mapiye1. N. Muchanyereyil and P. Dzomba1. 2012. Optimization of Fermentation Parameters for Ethanol Production from Ziziphus mauritiana Fruit Pulp Using *Saccharomyces cerevisiae* (NA33). International Journal of Biochemistry Research & Review. 2(2): 60-69.

UNEP., 2010. (United Nation Environmental Program).2010. Global Trends in Sustainable Energy Investment.

Van der Rest, M.E., A.H. Kamminga., A. Nakano., Y. Anraku., B. Poolman and W.N. Konings. 1995. The plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae*: structure, function, and biogenesis. Microbiol Rev. 59(2): 304-322.

Vavilov, N.I. 1951. The Origin, Variation, Immunity and Breeding of Cultivated Plants. Chronica Botanica Co., Waltham, MA, USA.

Walker, G.M and G.G. Stewart. 2016. *Saccharomyces cerevisiae* in the Production of Fermented Beverages. Beverages. 2(4): 30.

Wall, G.W., T.J. Brooks and N.R. Adam. 2001. Elevated atmospheric CO_2 improved sorghum plant water status by ameliorating the adverse effects of drought. New Phytologist. 152: 438- 473.

Wang, M., M. Wu and H. Huo. 2007. Life-cycle energy and greenhouse gas emission impacts of different corn ethanol plant types. Environmental Research Letters. 2(2): 1-13.

Ware, S.A. 1977. Single cell protein and other food recovery technologies from waste. Municipal environmental research Laboratory Office of Research and development. U.S Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio, 45268.

Werner-Washburne, M., E.L. Braun, M.E. Crawford, and V.M. Peck. 1996. Stationary phase in *Saccharomyces cerevisiae*. Mol. Microbiol. 19(6): 1159-1166.

White, J.1990. Yeast technology .Chapman and hall, London. Yadav, R.B.R., R. K. Bhatt and D.S. Katiyar. 1991. Physiological evaluation of fodder sorghum genotypes for drought tolerances. Sorghum Newsletter. 32:59.

Yalcin, S.K. and Z. Y. Ozbas. 2008. Effects of pH and temperature on growth and glycerol production kinetics of two indigenous wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* from Turkey. Braz. J. Microbiol. 39 (2):325-332.

Yoshida, F., T. Yamane and K. Nakamoto. 1973. Fed-batch hydrocarbon fermentation with colloidal emulsion feed. Biotechnol Bioeng. 15: 257-270.

Zabed, H., N.S. Golam., S.A. Jaya., H. Rosli and N.B. Amru. 2014. Bioethanol production from fermentable sugar Juice. The Scientific World Journal. 1:1-11.

الملحق

الأجهزة والمستلزمات التي استخدمت في تنفيذ البحث:

الأجهزة المستخدمة	المصدر	المستلزمات المستخدمة
مفاعل حيوي مخبري رباعي الأوعية BIOTECH-4GBR-5	الصين	فلاتر ذات قطر 0.45 µm والكترودات قياس pH والكترودات DO
جهازHPLC نوع KNAUER وأعمدة خاصة لتحليل السكريات.	ألمانيا	فلاتر 0.2 µm FG Millipore
جهاز تقطير كحول نوع، SELECTA	أوروبا	مقياس كحول إيتيلي، الإيتانول هيدرومتر v/v وسلندرات زجاجية بحجوم مختلفة
حاضنة هزازة، من شركة JSR	كوريا	دوارق زجاجية بحجوم مختلفة
جهاز مطياف الضوئي (Spectrophotometer) موديل U-2900 من شركة HITACHI	اليابان	كوفيت زجاج أنابيب اختبار بحجوم 15 mL
ميزان حساس، من شركة METLER TOLEDO	السويسرا	قفازات وقطن Micropippett Tips
مثفلة نوع (Biofuge Primimco R Heraeus)	إنكليزي	أنابيب Eppendorf
عصارة ميكانيكية ذات ثلاث إسطوانات	محلية الصنع	أوعية حفظ العصير
جهاز قياس البريكس Quick- Brix 60 من شركة METLER TOLEDO	السويسرا	ورق ترشيح
أوتوكلاف، من شركة JSR	كوريا	سدادات قطنية
جهاز تقطير ماء	كوريا	ماء مقطر
غرفة عزل جرثومي JSR	كوريا	إبر تلقيح
سخان مع محرك مغناطيسي، من شركة BOECO	ألمانيا	براد ومجمدة
جهاز قياس pH من شركة METLER TOLEDO	السويسرا	بياشر بحجوم مختلفة
حمام مائي من شركة Memmert Gmbh.Co.KG	ألمانيا	حوامل أنابيب معدنية
فرن تجفيف من شركة Memmert	ألمانيا	أطباق زجاجية
جهاز تقدير الرطوبة MA 35 من شركة Sartorius	ألمانيا	ورق ألمنيوم
مجهر ضوئي من شركة Nikon	اليابان	أطباق بتري
حاضنة من شركة GenLab	بريطانيا	ماصة باستور.

المواد المستخدمة في إنجاز البحث.

عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية	وسط تنشيط YPD (مستخلص الخميرة والببتون والغلوكوز)	كحول إيتيلي
مولاس ناتج عن صناعة السكر	وسط البطاطا والدكستروز الصلب PDA	سكر الغلوكوز- الفركتوز - السكروز
ماء مقطر - ماء منزوع الشوارد	مانع رغوة Anti Foam	حمض الكبريت المركز
يوريا فوسفات ثنائية الامونيوم	عزلة محلية من خميرة *S. cereviseae*	حمض كلور الماء المركز
أزرق الميثيلين	DNSA	طرطرات الصوديوم والبوتاسيوم 40 %

مواصفات سلالات خميرة الخباز التجارية المستوردة

المنشأ: (إيران)، اسم الشركة: (Razavi Yeast)، النوع: خميرة جافة نشطة، الرمز: (I).

المواد	غ/ 100 غ، %.
المادة الجافة	95.5 - 94.5
pH	5 ± 2
الكربوهيدرات	40 - 35
البروتين	50 - 45
الفوسفات	3-2
الرماد	8 - 4

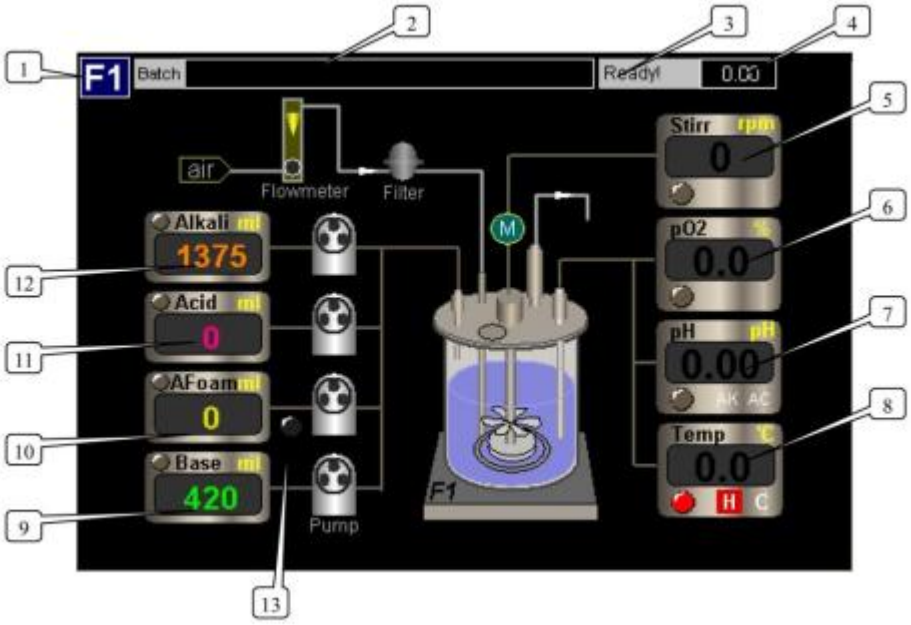
المنشأ: (مصر)، اسم الشركة: (Alibaba Yeast)، النوع: خميرة جافة، الرمز: (E1).

المواد	غ/ 100 غ، %.
المادة الجافة	93
pH	6
الكربوهيدرات	35
البروتين	43.5
الفوسفات	2
الرماد	5.5

المنشأ: (مصر)، اسم الشركة: (Angel Yeast)، النوع: خميرة جافة، الرمز: (E2).

المواد	غ/ 100 غ، %.
المادة الجافة	96 - 92
pH	5.4
الكربوهيدرات	45 - 35
البروتين	44 ± 2%
الفوسفات	3
الرماد	6 ± 2%

رسم تخطيطي للمفاعل الحيوي المخبري، رباعي الأوعية.



1- رقم وعاء التخمير. 2- طريقة التخمير. 3- حالة وعاء التخمير.4- زمن التخمير. 5- سرعة الدوران دورة/ دقيقة. 6- النسبة المئوية للأكسجين. 7- pH. 8- الحرارة. 9- الكمية التراكمية للمغذيات (مل). 10- الكمية التراكمية لمانع الرغوة (مل). 11- الكمية التراكمية للحمض(مل). 12- الكمية التراكمية للقلوي(مل). 13- لمبة تضيئ عند تشكل الرغوة.

مراحل العمل.

(1)

زُرعت الذرة البيضاء السكرية

(2) استخلصت العصارة السكرية

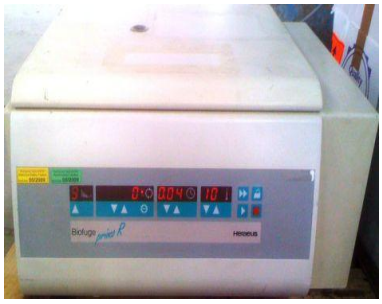
(8) حُصل على الخميرة والإيتانول الحيوي

(3) حُضرت الأوساط المغذية

(7) قَطِر سائل التخمير

(4)عُقمت الأوساط

(5) لُقحت وحُضنت للتخمير



(6) ثُفل سائل التخمير

التحليل النوعي لسكريات عصارة ساق الذرة البيضاء السكرية، باستخدام تقانة HPLC.

Damascus University

Faculty of Agriculture

Department Of Food Science

Optimization of Baker's Yeast and Bioethanol Production From Sugar Sorghum Juice

Thesis Submitted for Ph.D Degree in Food Science

Prepared by

Eng: Rahim Abu-Aljadael

Supervised by

Dr. Saleh Abou - Kheir

Damascus University
Faculty of Agriculture
Food Science Department

Dr. Fawaz Azmeh

Damascus University
Expert at the National Commission
for Biotechnology

2017