

نمذجة عملية التخمير الكحولي باستخدام خميرة *Saccharomyces cerevisiae* في بيئة MATLAB/Simulink

يحيى اسماعيل^{1*} و رامز محمد¹ و ألفت جولحة²



¹ قسم علوم الأغذية في جامعة اللاذقية، اللاذقية، سورية.

² قسم هندسة الحاسبات والتحكم الآلي في جامعة اللاذقية، سورية.

(*للمراسلة: يحيى غسان اسماعيل، البريد الإلكتروني: yahia.esmail@tishreen.edu.sy، هاتف: 0936094505)

تاريخ الاستلام: 2025 / 3 / 3 تاريخ القبول: 2025 / 7 / 5

الملخص

استُخدم في هذه الدراسة عصير العنب المرشح والمُنقى كمادة أولية، وضبطت ظروف التخمير على درجة حرارة 25°C ، ولقَّح العصير بخميرة جافة فورية *Saccharomyces cerevisiae* ATCC® 2601. واستغرقت عملية التخمير مدة 10 أيام، حيث سُجبت عينة كل 24 ساعة لقياس تركيز السكريات الكلية، والكتلة الحيوية، وتركيز الإيثانول المُتشكّل أثناء التخمير. وضبطت الظروف الابتدائية كما يلي: تركيز السكريات الأولية $S_0 = 200 \pm 0.059 \text{ g/l}$ ، تركيز الكحول الأولي $P_0 = 0 \text{ g/l}$ ، تركيز الخميرة الأولي $X_0 = 1.5 \text{ g/l}$ ، لوحظ استهلاك $0.071 \pm 12.66 \text{ g}$ من السكريات بعد يوم واحد من التخمير وإنتاج $10.52 \pm 0.22 \text{ g}$ من الإيثانول والتي تمثل نحو 83.1% من السكريات المستهلكة وتزداد الكتلة الحيوية بمقدار $0.273 \pm 0.66 \text{ g}$ ، والتي تمثل نحو 5.21% من كمية السكريات المستهلكة. يستمر استهلاك الركيزة خلال التخمير، ليبلغ إجمالي السكريات الكلية المستهلكة نحو 95.74% في اليوم العاشر من التخمير، أي ما يعادل $1.291 \pm 191.48 \text{ g}$ وبلغ أقصى تركيز للكحول في اليوم العاشر أيضاً $0.04 \pm 120.1 \text{ g}$ أما بالنسبة للكتلة الحيوية فكان التركيز الأعظمي للكتلة الحيوية $X_{\text{max}} = 15.39 \pm 0.04 \text{ g/l}$ في اليوم العاشر من التخمير وكان معدل النمو الخاص بخلايا الخميرة $\mu_{\text{max}} = 0.674 \text{ h}^{-1}$. تم نمذجة عملية تشكل الكتلة الحيوية واستهلاك الركيزة وإنتاج الكحول وفق ثلاث معادلات خاصة بدلالة الزمن استخدمت طريقتين Runge-Kutta, Euler لحلها حيث تفوقت نتائج الحل بطريقة Runge-Kutta على نتائج طريقة Euler في قياسات الكتلة الحيوية والركيزة والإيثانول لانخفاض قيمة معامل التحديد R^2 ومتوسط الخطأ المطلق MAE ومتوسط مربع الخطأ MSE حيث بلغت القيم:

$$R_X^2 = 0.987, \quad MAE_X = 0.686, \quad MSA_X = 0.654$$

$$R_P^2 = 0.996, \quad MAE_P = 2.221, \quad MSE_P = 8.035$$

$$R_S^2 = 0.991, \quad MAE_S = 6.811, \quad MSE_S = 66.59$$

الكلمات المفتاحية: الكتلة الحيوية، الركيزة، معادلات تفاضلية، Euler، Runge-Kutta.

المقدمة:

تشير الصناعات التخميرية إلى استخدام الأحياء الدقيقة ضمن ظروف بيئية مضبوطة سواء كانت هوائية أو لا هوائية، بهدف إنتاج مركبات مفيدة ذات قيمة اقتصادية على المستوى الصناعي. بدأت أهمية الأحياء الدقيقة في هذا المجال بالتبلور بفضل الأبحاث حول عمليات التخمير، والتي أجريت خلال النصف الثاني من القرن التاسع عشر. من المنظور الصناعي، تعدّ الأحياء الدقيقة بمثابة

مصانع كيميائية قادرة على إحداث تغييرات نوعية ومطلوبة في البيئة عبر إنتاج الإنزيمات التي تقوم بتحويل مواد خام منخفضة التكلفة موجودة في تلك البيئة إلى منتجات ذات أهمية اقتصادية، يتم عزلها واستخدامها بعد الإنتاج. وقد أظهرت الأبحاث أن التحول الكيميائي الأبرز في صناعة التخميرات الكحولية يتمثل في تحليل السكريات البسيطة بفعل أنواع معينة من الخمائر (yeast)، مما ينتج عن ذلك الكحول إلى جانب غاز ثنائي أكسيد الكربون كمنتجات نهائية. (Sicard, et al., 2011) ينتج التخمير البسيط للسكريات بفعل الخمائر كمية من الكحول لا تزيد على 16%، حيث إن الكحول الناتج يُنبت نمو هذه الخمائر مما يوقف إنتاجه (Biossin, 2001; Hanson et al., 2006).

تقضي الخميرة معظم حياتها بشكل خلية واحدة، وتتكاثر بالتبرعم أو بالانشطار، وعزلت أنواع متعددة من الخمائر المساهمة ومن أهمها جنس *Saccharomyces* الذي تعدّ أنواعه مهمة في صناعة النبيذ وأكثر أنواعه أهمية هو *S. cerevisiae* (Sicard et al., 2011) الذي يتميز بأهميته الصناعية في صناعة الكحول (Pretorios, 2000). تنتج *S. cerevisiae* الإيثانول مع كميات متفاوتة من المواد الأخرى، مثل الميثانول والألدهيدات والكحوليات الأعلى (كحول fusel) والأحماض العضوية (حمض الأسيتيك وحمض اللاكتيك). تقلل هذه المنتجات المشتركة من جودة الإيثانول (Arshad et al., 2008). الهدف الأساسي لخليّة الخميرة هو التكاثر بدلاً من صنع الكحول، ومع ذلك، يرتبط إنتاج الكحول ونمو الخميرة ارتباطاً وثيقاً، يتم إنتاج الإيثانول لأن الخلايا تسعى جاهدة للحفاظ على توازن الأكسدة والاختزال الخاصة بها وإنتاج ATP للنمو المستمر. في الواقع، لا يمكن إنتاج الإيثانول بكفاءة بدون نمو كبير لخلية الخميرة (Walker and Stewart., 2016).

في دراسة نفذها Germec وزملاؤه عام (2019)، تمحورت حول نمذجة إنتاج الإيثانول باستخدام مستخلص الخرنوب كمادة وسطية ضمن مفاعل الأغشية الحيوية، جرى تحليل النموذج اللوجستي لتكاثر الخلايا، ونموذج Leudeking-Piret لإنتاج الإيثانول، إضافة إلى النسخة المعدلة منه لاستهلاك الركيزة. تم التوصل إلى القيم الحركية من خلال مواءمة النتائج المرجوة مع النماذج المعتمدة. وبيّنت النتائج أن النماذج الحركية المقترحة كانت متطابقة بشكل كبير مع البيانات التجريبية لكل وسط تم دراسته.

تمحورت دراسة أخرى أجراها Agu وزملاؤه (2021) حول النمذجة الحركية لعملية إنتاج الإيثانول عبر التخمير الدفعي لعصير قصب السكر باستخدام الخميرة المثبتة. اعتمدت الدراسة على النموذج اللوجستي لوصف نمو الخميرة، بالإضافة إلى توظيف نموذج Leudeking-Piret. كما تم استخدام نفس النموذج (Leudeking-Piret) في تحليل استهلاك الركيزة، لما أظهره من توافق مثالي مع عملية إنتاج الإيثانول من عصير قصب السكر. في دراسة أجراها Delgado-Noboa وفريقه عام (2021)، استهدفت التوصل إلى إنتاج الإيثانول الحيوي من خلال تخمير منتج الكاكاو CCN-51 باستخدام خميرة *S. cerevisiae*. كما ركزت الدراسة على ملاءمة النتائج التجريبية للنماذج الرياضية المختلفة مثل Logistic، Modified Gompertz، و Andrews Levenspiel. وقد أظهر النموذج اللوجستي كفاءته في وصف عملية نمو الخميرة، بينما تبين أن نموذج Modified Gompertz يعد الأنسب لمحاكاة إنتاج الإيثانول الحيوي. أما نموذج Andrews Levenspiel فقد قدم تصوراً يأخذ في الحسبان تأثير تثبيط الركيزة والمنتج.

قدمت معظم هذه الأبحاث حلول رياضية متعددة للمعادلات التفاضلية التي توصف النظام والتي تختلف في دقتها وتعدّ طريقتا (Euler) و (Runge-Kutta) من الأساليب العددية الأساسية لحل المعادلات التفاضلية العادية (ODEs) بطريقة الخطوات الثابتة. تعتمد طريقة Euler من الرتبة الأولى (ode1) على فكرة بسيطة تتمثل في تقدير حل المعادلة التفاضلية خطوةً بخطوة باستخدام الميل الحالي للدالة عند كل نقطة، مما يجعلها سهلة التطبيق ولكنها تعاني من دقة محدودة وتراكم الأخطاء، خاصةً عند استخدام

خطوات زمنية كبيرة. في المقابل، تقدم طريقة Runge-Kutta من الرتبة الرابعة (ode4) حلاً أكثر تطوراً ودقةً عبر استخدام أربع تقديرات للميل ضمن كل خطوة زمنية (الميل عند نقطة البداية، ومنتصف الخطوة مرتين، ونهاية الخطوة)، ثم دمجها بوزن محدد للحصول على تقريب أدق. (Süli and Mayers, 2023).

أهمية البحث وأهدافه:

تكمن أهمية النمذجة في أنها تتيح التجربة دون مخاطرة، والتنبؤ قبل الحدوث، والاستكشاف دون تكلفة. فمن خلال لوحة رياضية وأدوات محاكاة، نستطيع أن نختبر سيناريوهات قد تكون مستحيلة أو مكلفة في الواقع الفعلي. في هذا البحث، تم تناول النمذجة ليس كهدف في حد ذاته، بل كجسر بين النظرية والتطبيق، وكعدسة مكبرة تمكننا من رؤية ما خفي عن العين المجردة. أما الغاية الأساسية لهذا البحث فلم تكن منحصرة في التقييم الإحصائي التقليدي، بل تمثلت في التحقق من قدرة النماذج الرياضية التفاضلية على محاكاة السلوك الحيوي لنمو الخميرة وإنتاج الإيثانول، مع تحديد الحلول الرياضية الأمثل لتحليل هذا النموذج ضمن بيئة المحاكاة الرياضية..

مواد البحث وطرائقه:

مواد البحث:

استخدم لهذا البحث عنب صنف *vitis vinifera*، خميرة الخباز *S. cerevisiae ATCC® 2601™* من شركة HIMEDIA

طرائق البحث:

تحضير العينات: أُجريت عملية هرس لثمار العنب باستخدام مطحنة كهربائية استطاعتها 200 واط، ومن ثم إضافة خللات الرصاص المتعادلة بهدف إزالة العكارة والملونات. وبعد ذلك، الترشيح بشكل متدرج باستخدام القماش وورق الترشيح، تلاه إجراء تعقيم غير مباشر (حمام مائي) بدرجة حرارة 100°C مدة 15 دقيقة. في المرحلة التالية، تم تقدير تركيز السكريات الكلية الابتدائية S_0 في المستخلص وضبطها، وهكذا تصبح المادة الأولية جاهزة للتخمير حيث يملأ وعاء التخمر بنسبة 3/4 سعته الفعلية. تبدأ مرحلة التخمر بإضافة خلايا الخميرة بتركيز $X_0 = 1.5g/l$ وضبط درجة الحرارة على 25°C مدة 10 أيام وتركيز السكريات الابتدائية $S_0 = 200 g/l$. وتأخذ عينة كل 24 ساعة.

طرائق القياس:

-لتقدير تركيز الإيثانول استخدام طريقة الأكسدة الكيميائية لحساب نسبة الإيثانول في العينات حيث تعتمد هذه الطريقة على تقطير الإيثانول من العينات باستخدام المبخر الدور واستقبال الناتج المقطر في وسط مُحَمَّض (بواسطة حمض الكبريت) وحجم معلوم من ديكرومات ثنائية البوتاسيوم حيث يتأكسد الإيثانول إلى حمض الخل ثم يقدر الحجم غير المتفاعل من الديكرومات بالمعايرة بواسطة كبريتات الحديد النشادرية الثنائية (محلول مور) بوجود كاشف أورثو فينانثرولين. (Caputi, et al., 1968)

-لتقدير تركيز السكريات الكلية استخدمت الطريقة اللونية من خلال تفاعل السكريات مع كاشف الأنثرون في وسط مُحَمَّض وقياس الامتصاصية باستخدام جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجة 620 نانومتر (AOAC., 2016)

-لتقدير تركيز الكتلة الحيوية تم قياس الامتصاصية الضوئية باستخدام جهاز المطيافية الضوئية عند طول الموجة 620 نانومتر. استخدام وسط تخمير غير مُلغَّح كعينة شاهد. ثم تحويل قيم الامتصاص إلى تركيز الكتلة الحيوية باستخدام منحني قياسي من المعادلة التالية: (Madigan, et al., 2018)

$$Y = 0.666019 * X + 0.10634 \quad (1)$$

حيث أن Y : هي الكتلة الحيوية $g \text{ dry biomass/L}$. X : الامتصاصية عند 620 Nm

النتائج والمناقشة:

القياسات التجريبية للكتلة الحيوية والإيثانول والركيزة خلال التخمير.

تم قياس تركيز كلٍ من الركيزة (S_{real}) والمنتج النهائي (P_{real}) والكتلة الحيوية (X_{real}) في العينات المأخوذة خلال التخمير، ويوضح الجدول (1) قيم التراكيز المتحصل عليها بالتحليل. حيثُ يلاحظ استهلاك $12.66 \pm 0.071 \text{ g}$ من السكريات بعد يوم واحد من التخمير ليتم إنتاج $10.52 \pm 0.22 \text{ g}$ من الإيثانول والتي تمثل نحو 83.1% من السكريات المستهلكة الجدول 2 و 3. وتزداد الكتلة الحيوية بمقدار $0.66 \pm 0.273 \text{ g}$ ، والتي تمثل نحو 5.21% من كمية السكريات المستهلكة. وبحساب الفرق بين كمية السكريات المستهلكة للإيثانول والكتلة الحيوية مع الكمية الكلية المستهلكة يتبين وجود فارق مقداره $0.358 \pm 1.48 \text{ g}$ ، والذي يمثل نحو 11.69% من مجمل السكريات الكلية المستهلكة وهذا الفارق يمكن تفسيره بإنتاج مركبات أخرى خلال التخمير وكذلك الطاقة (طاقة حرارية وحركية) التي يتم صرفها خلال التخمير (Arshad et al., 2008).

يستمر استهلاك الركيزة خلال التخمير، ليلبغ إجمالي السكريات الكلية المستهلكة نحو 95.74% في اليوم العاشر من التخمير، أي ما يعادل $191.48 \pm 1.291 \text{ g}$ سكريات، منها $120.1 \pm 0.04 \text{ g}$ إيثانول، والتي تمثل نحو 62.72% من مجمل السكريات المستهلكة و $13.89 \pm 0.04 \text{ g}$ من الكتلة الحيوية، والتي تمثل نحو 7.25% من مجمل السكريات الكلية المستهلكة. ويلاحظ بأن الفاقد من السكريات المستهلكة نحو 30% من مجمل السكريات المستهلكة.

الجدول (1): تركيز كلٍ من الركيزة والإيثانول والكتلة الحيوية خلال التخمير.

$X_{\text{real}} \text{ g/l}$	$P_{\text{real}} \text{ g/l}$	$S_{\text{real}} \text{ g/l}$	T day
1.5 ± 0.000	0 ± 0.000	200 ± 0.059	0
2.16 ± 0.273	10.52 ± 0.22	187.34 ± 0.04	1
3.52 ± 0.231	25.41 ± 0.26	168.65 ± 0.495	2
5.55 ± 0.105	45.13 ± 0.064	137.43 ± 0.09	3
8.61 ± 0.1	69.06 ± 0.064	99.96 ± 0.139	4
12.51 ± 0.071	95.68 ± 0.08	52.90 ± 0.439	5
14.57 ± 0.045	111.23 ± 0.021	22.21 ± 0.096	6
14.95 ± 0.065	115.39 ± 0.035	10.91 ± 0.667	7
15.2 ± 0.072	119.23 ± 0.02	9.52 ± 1.33	8
15.35 ± 0.04	120.01 ± 0.055	8.72 ± 0.744	9
15.39 ± 0.04	120.1 ± 0.04	8.52 ± 1.29	10

*تركيز السكريات والكحول والخميرة غ/ل على التوالي $X_{\text{real}}, P_{\text{real}}, S_{\text{real}}$

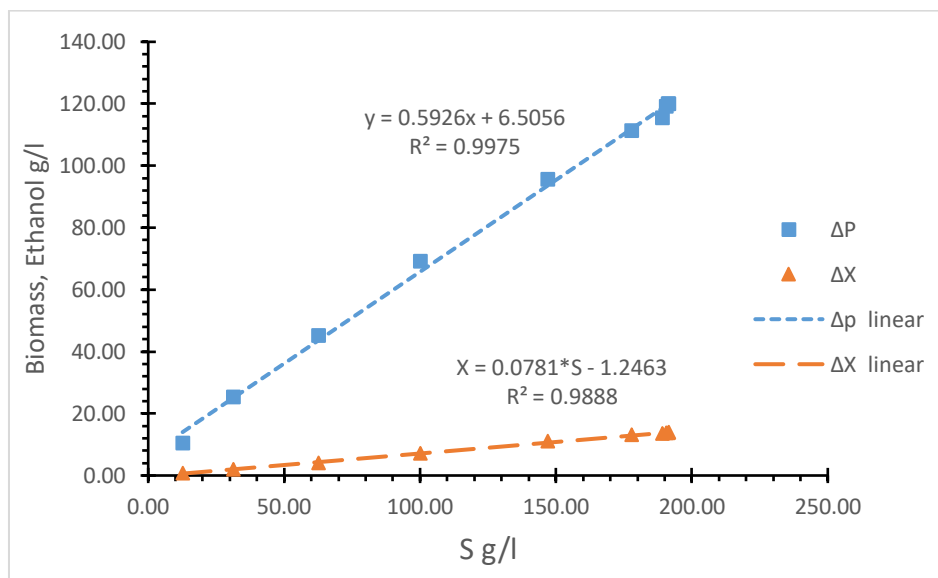
الجدول (2): مقارنة كمية السكريات المستهلكة خلال التخمر بإنتاج الإيثانول وتشكيل الكتلة الحيوية

$\Delta(P+X)-S$ g	ΔX_{real} g	ΔP_{real} g	ΔS_{real} g	T day
1.48 ± 0.358	0.66 ± 0.273	10.52 ± 0.22	12.66 ± 0.071	1
3.92 ± 0.608	2.02 ± 0.231	25.41 ± 0.26	31.35 ± 0.499	2
13.39 ± 0.164	4.05 ± 0.105	45.13 ± 0.064	62.57 ± 0.108	3
23.87 ± 0.192	7.11 ± 0.1	69.06 ± 0.064	100.04 ± 0.151	4
40.41 ± 0.456	11.01 ± 0.071	95.68 ± 0.08	147.1 ± 0.443	5
53.49 ± 0.123	13.07 ± 0.045	111.23 ± 0.021	177.79 ± 0.113	6
60.25 ± 0.674	13.45 ± 0.065	115.39 ± 0.035	189.09 ± 0.67	7
57.55 ± 1.333	13.7 ± 0.072	119.23 ± 0.02	190.48 ± 1.331	8
57.42 ± 0.749	13.85 ± 0.04	120.01 ± 0.055	191.28 ± 0.746	9
57.49 ± 1.292	13.89 ± 0.04	120.1 ± 0.04	191.48 ± 1.291	10

الجدول (3): النسبة المئوية لاستهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول وتشكيل الكتلة الحيوية خلال التخمر.

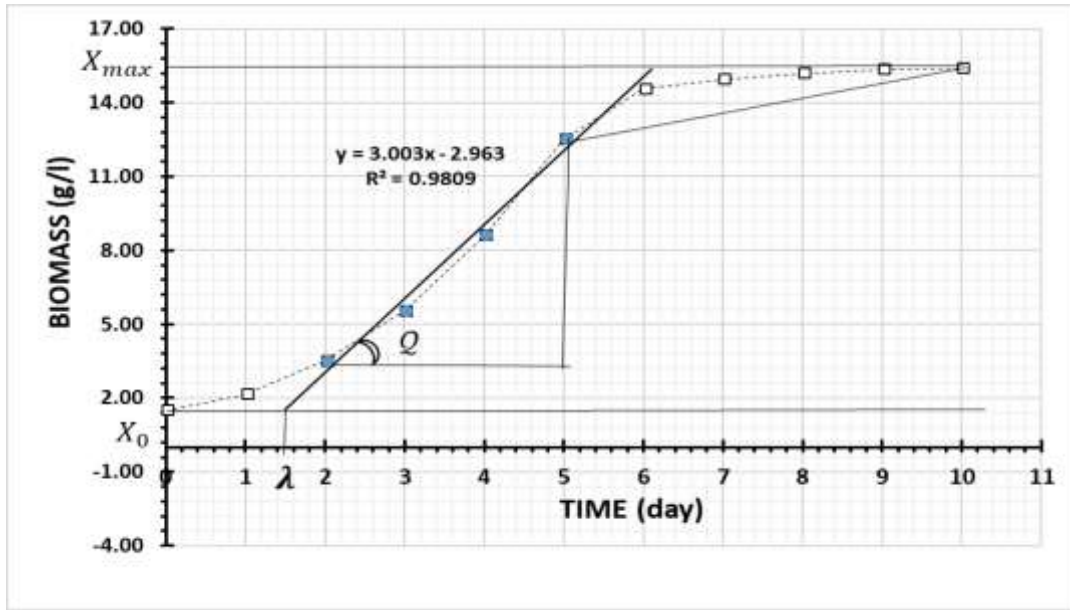
$\Delta(P+X)-S$ %	ΔX_{real} %	ΔP_{real} %	ΔS_{real} %	T day
11.69	5.21	83.10	6.33	1
12.50	6.44	81.05	15.675	2
21.40	6.47	72.13	31.285	3
23.86	7.11	69.03	50.02	4
27.47	7.48	65.04	73.551	5
30.09	7.35	62.56	88.895	6
31.86	7.11	61.02	94.545	7
30.21	7.19	62.59	95.24	8
30.02	7.24	62.74	95.64	9
30.02	7.25	62.72	95.74	10

بناءً على ما سبق، تم تحديد العلاقة بين استهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول ونمو وتكاثر الخميرة (الكتلة الحيوية). ويوضح الشكل (1) هذه العلاقة، حيثُ يتبين أنَّ العلاقة بين استهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول علاقة طردية وقوية، حيث بلغ معامل الارتباط $R_{S-P} = 0.998$ أما بالنسبة لاستهلاك الركيزة ونمو الكتلة الحيوية فهي علاقة طردية أيضاً وقوية، وبلغ معامل الارتباط $R_{S-X} = 0.989$.



الشكل (1): العلاقة بين استهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول ونمو وتكاثر الخميرة.

لدراسة التغيرات في كمية الركيزة والإيثانول والكتلة الحيوية خلال عملية التخمير. يأخذ النمو الميكروبي شكل منحنى sigmoidal S ويتضمن طور البدء lag phase، وطور النمو اللوغاريتمي log phase، وطور الثبات stationary phase، لحساب الزمن اللازم لكل طور من الشكل (2) الذي يوضح منحنى النمو الخاص بالخميرة، حيث تمثل $X_{max}(g/l)$: التركيز الأعظمي للنمو وتمثل $X_0(g/l)$: التركيز الابتدائي. وتمثل $Q(g/l.day)$: أقصى معدل للنمو. وتمثل $\lambda(day)$: زمن طور البدء، وهي تقاطع المحور X مع المماس في نقطة الانعطاف.



الشكل (2): منحنى النمو الخاص بالخميرة.

قيست زاوية الميل التي تمثل أقصى نمو $Q = 71.58^\circ$ ، ثم بناءً على معادلة المستقيم حسب زمن طور البدء ليتبين أنه يساوي $\lambda = 1.49 day$ أي أن طور البدء استمر ما يقارب 36 ساعة منذ بدء التخمير بحسب الظروف الأولية للتخمير، ليبدأ بعدها طور النمو اللوغاريتمي للخميرة بالتزايد حتى نهاية اليوم الخامس من التخمير، فيكون معدل النمو أعظماً فيه، ويبلغ $3.9 g/l.day$ ليبدأ بعدها المعدل بالتناقص والانخفاض تدريجياً وظهور طور الثبات وينعدم النمو تقريباً في اليوم العاشر من التخمير. (الجدول (4)). وهذا يتناسب مع التغير في تركيز الركيزة بتقدم عملية التخمير، حيث يزداد استهلاك الركيزة ويكون معدل الاستهلاك أعظماً في نهاية اليوم الخامس من التخمير $47.06 g/l.day$ ، ليبدأ بعدها استهلاك الركيزة بالانخفاض بشكل مواز لنمو وتكاثر الكتلة الحيوية، ويستمر الانخفاض حتى اليوم العاشر من التخمير. أما بالنسبة لمعدل إنتاج الإيثانول، فاستمر معدل الإنتاج بالتزايد تدريجياً وكان أعظماً في اليوم الخامس من التخمير، ليبدأ بعدها معدل إنتاجه بالتناقص تدريجياً حتى اليوم العاشر. وبالنسبة للفرق بين كمية الركيزة الكلية المستهلكة وما تم استهلاكه لنمو الكتلة الحيوية وإنتاج الإيثانول، يلاحظ أن معدل الفرق يتناسب طردياً مع معدل نمو الخميرة ومعدل إنتاج الإيثانول ومعدل استهلاك الركيزة. بمعنى أنه كلما زاد معدل نمو الخميرة، زاد معدل استهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول، ثم زاد تركيز الكتلة الحيوية في وحدة الحجم. ومنه يزداد الفرق بين كمية الركيزة الكلية والمستهلكة فعلياً، وهو ما يُفسر بأن خلايا الخميرة تستهلك جزءاً من الركيزة لصيانة الخلايا. فكلما زادت الكتلة الحيوية، زاد تركيز الخلايا (g/l) وبالتالي زاد الفرق، ويمكن تمثيل هذا الفرق بمعدل استهلاك الركيزة المستخدمة لصيانة الخلية m .

الجدول (4): التغير في كمية السكريات المستهلكة والإيثانول والكتلة الحيوية خلال التخمر.

$\Delta(P+X)-S/\Delta T$ g/l. day	$\Delta X/\Delta T$ g/l. day	$\Delta P/\Delta T$ g/l. day	$\Delta S/\Delta T$ g/l. day	T day
1.48	0.66	10.52	12.66	1
2.44	1.36	14.89	18.69	2
9.47	2.03	19.72	31.22	3
10.48	3.06	23.93	37.47	4
16.54	3.90	26.62	47.06	5
13.08	2.06	15.55	30.69	6
6.76	0.38	4.16	11.30	7
2.70	0.25	3.84	1.39	8
0.13	0.15	0.78	0.80	9
0.07	0.04	0.09	0.20	10

بناء النموذج الرياضي الحركي لوصف تغيرات الكتلة الحيوية والإيثانول والركيزة خلال التخمر.

بناءً على المعطيات السابقة وعلى الظروف الابتدائية $X_0 = 1.5$ g/l و $P_0 = 0$ g/l و $S_0 = 200$ g/l يتمثل التغير في الكتلة الحيوية مع التقدم بعملية التخمر بالمعادلة التفاضلية التالية:

$$\frac{dX}{dt} = X \cdot \mu_{max} \left(1 - \frac{X}{X_{max}}\right) \quad (2)$$

حيث أن μ_{max} هو معدل النمو الأعظمي الخاص بالخميرة h^{-1} ، X_{max} : التركيز الأعظمي لتركيز الكتلة الحيوية g/l.

ولتحديد قيمة $\mu_{max} = 0.674$ h⁻¹ استخدمت طريقة الإرجاع إلى المربعات الصغرى لجعل قيمة الخطأ المطلق بين النتائج المتنبأ بها والنتائج المتحصل عليها بالقياس أقل ما يمكن. حيث بلغ أعلى تركيز للكتلة الحيوية في عينة اليوم العاشر من التخمر $X_{max} = 15.39$ g/l.

ويتمثل التغير في إنتاج الإيثانول خلال عملية التخمر بالمعادلة التفاضلية التالية حسب نموذج leudeking-piret:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \quad (3)$$

حيث أن α , β : قيم ثابتة تدل على تكوين المنتج وتختلف باختلاف ظروف التخمر.

إذا كانت قيمة $\alpha \neq 0$ وقيمة $\beta = 0$ فإن تكوين المنتج مرتبط بالنمو. أما إذا كانت قيمة $\alpha = 0$ وقيمة $\beta \neq 0$ فإن تكوين المنتج غير مرتبط بالنمو. أما إذا كانت قيمة $\alpha \neq 0$ وقيمة $\beta \neq 0$ فإن تكوين المنتج مرتبط بالنمو المختلط.

حددت قيمة β التي تعبر عن إنتاج الإيثانول غير المرتبطة بنمو الخميرة $\beta = 0$ gP/gX.day. وحددت أيضاً قيمة α التي تعبر عن إنتاج الإيثانول المرتبطة بنمو الخميرة $\alpha = 8.998$ gP/gX مع حساب هذه القيم باستخدام المربعات الصغرى. وُجِدَ أنَّ إنتاج الإيثانول يعتمد بشكل مباشر على نمو الخميرة،

ويتمثل استهلاك السكر بالمعادلة التفاضلية التالية حسب نموذج Luedeking-Piret المعدل:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_X/S} \cdot \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_P/S} \cdot \frac{dP}{dt} + mX \quad (4)$$

حيث تمثل m : معدل استهلاك الركيزة المستخدمة لصيانة الخلية. Y_X/S : مردودية الكتلة الحيوية من استهلاك الركيزة. Y_X/S : مردودية الإيثانول المنتج من استهلاك الركيزة.

نعوض المعادلة (3) بالمعادلة (4) فنحصل على المعادلة (5)

$$-\frac{dS}{dt} = \left[\frac{1}{Y_X/S} + \frac{\alpha}{Y_P/S} \right] \cdot \frac{dX}{dt} + \left[\frac{\beta}{Y_P/S} + m \right] \cdot X \quad (5)$$

حددت قيمة المؤشرات السابقة في المعادلة (5) حيث كانت مردودية الكتلة الحيوية خلال التخمير $Y_X/S = 0.935 \text{ gX/gS}$ ومردودية الإيثانول خلال التخمير $Y_P/S = 0.702 \text{ gP/gS}$ وتم أيضا حساب قيمة المعدل $m = 0.065 \text{ g S/g X}$ الذي يدل على كمية السكريات المستهلكة في صيانة الكتلة الحيوية حتى في حال غياب النمو. ويوضح الجدول (5) قيم مؤشرات النمو في دراسات مماثلة حيث يلاحظ تباين كبير في القيم باختلاف ظروف التخمير وكذلك بيئة التخمير.

الجدول (5): قيم مؤشرات النمو في الدراسات المماثلة.

المرجع	β	α	X_{max}	μ_{max}	المادة الخام	الكائن الدقيق
(Jiménez-Islas <i>et al.</i> , 2014)	-0.044	5.3184	6.35	0.4669	عصير الشمندر الأحمر	<i>S. cerevisiae</i> ITD00196
(Jiménez-Islas <i>et al.</i> , 2014)	0.1047	4.5326	5.31	0.3794	عصير الشمندر الأحمر	<i>S. cerevisiae</i> ATCC 9763
(Liu <i>et al.</i> , 2019)	0.013	2.392	3.16	0.125	مخلفات الذرة	<i>S. cerevisiae</i> and <i>Candida tropicalis</i>
(Suresh <i>et al.</i> , 2018)	0	0.733	12.80	0.095	مصل اللبن (الشرش الخام)	<i>Kluveromyces marxianus</i>

صمم نموذج المحاكاة وفق المعادلات التفاضلية (2)، (3)، (4) باستخدام بيئة MATLAB/SIMULINK الشكل (3) حيث تم الحل بطريقتين:

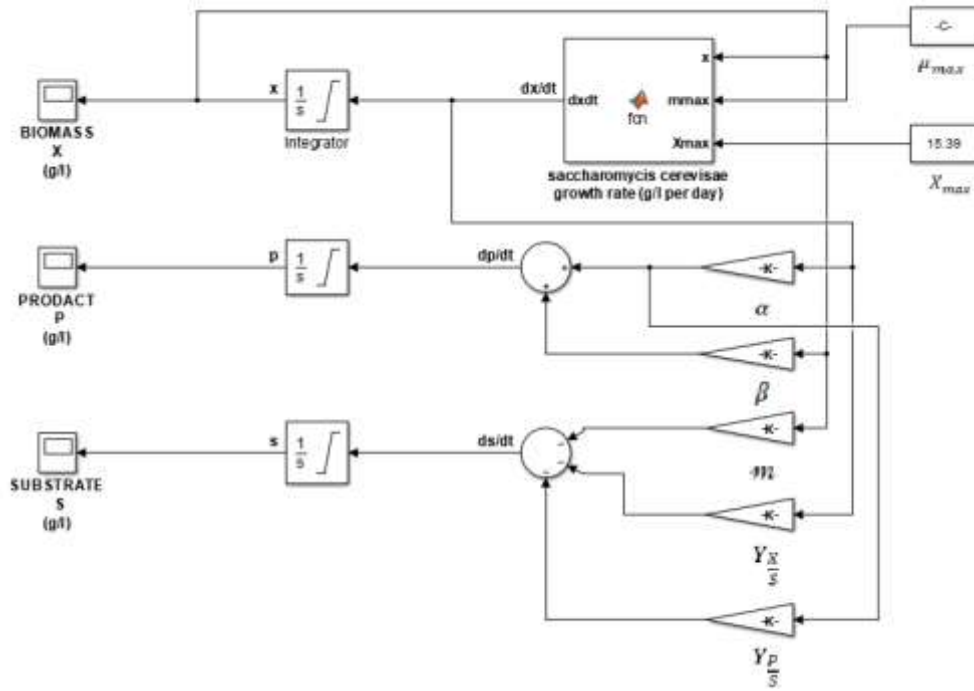
1. Fixed-Step ode4 (Runge-Kutta)
2. Fixed-Step ode1 (Euler)

توضح الأشكال (4)، (5)، (6) نتائج الطريقتين لتحديد أيهما أفضل في التنبؤ بنتائج قياسات الركيزة والإيثانول والكتلة الحيوية.

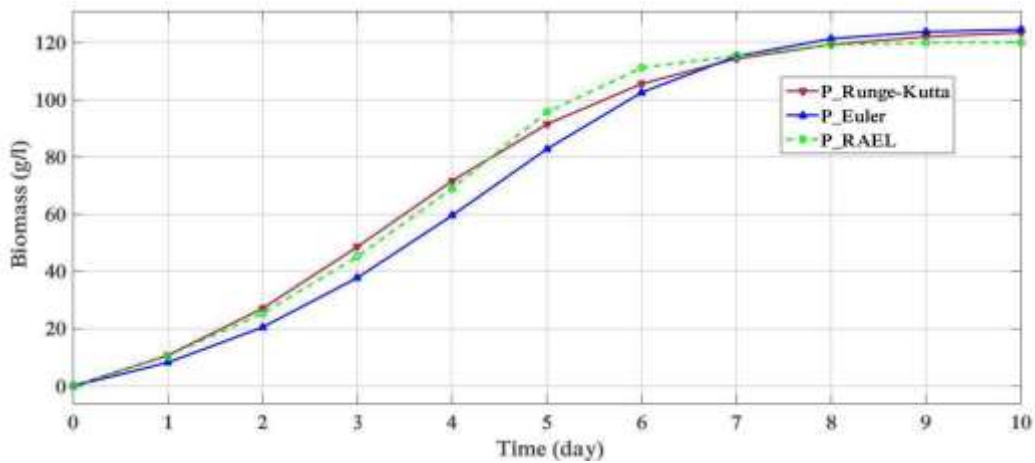
حيث يوضح الشكل (4) التغيرات الحقيقية في تركيز الكتلة الحيوية خلال التخمير ونتائج النموذج المقترح وفقاً لطريقة الحل.

ويوضح الشكل (5) التغيرات الحقيقية في تركيز الركيزة خلال التخمير ونتائج النموذج المقترح وفقاً لطريقة الحل.

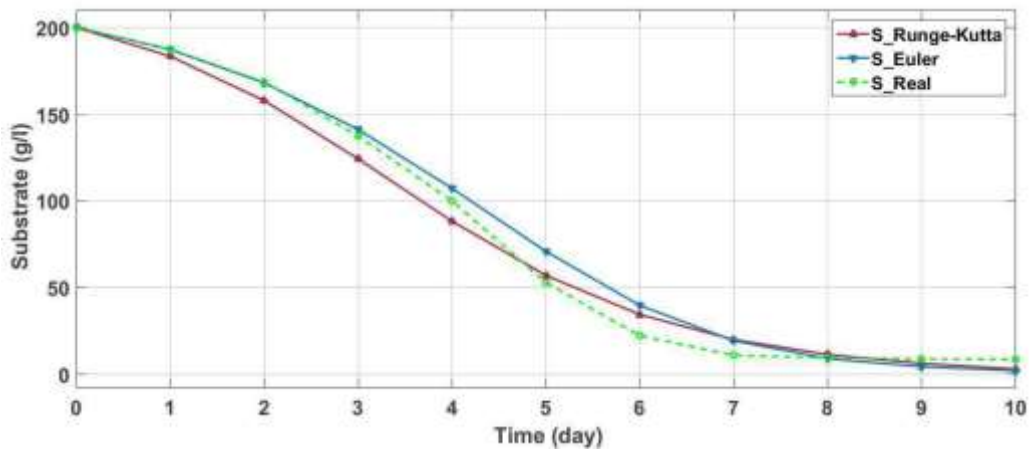
ويوضح الشكل (6) التغيرات الحقيقية في تركيز الإيثانول خلال التخمير ونتائج النموذج المقترح وفقاً لطريقة الحل.



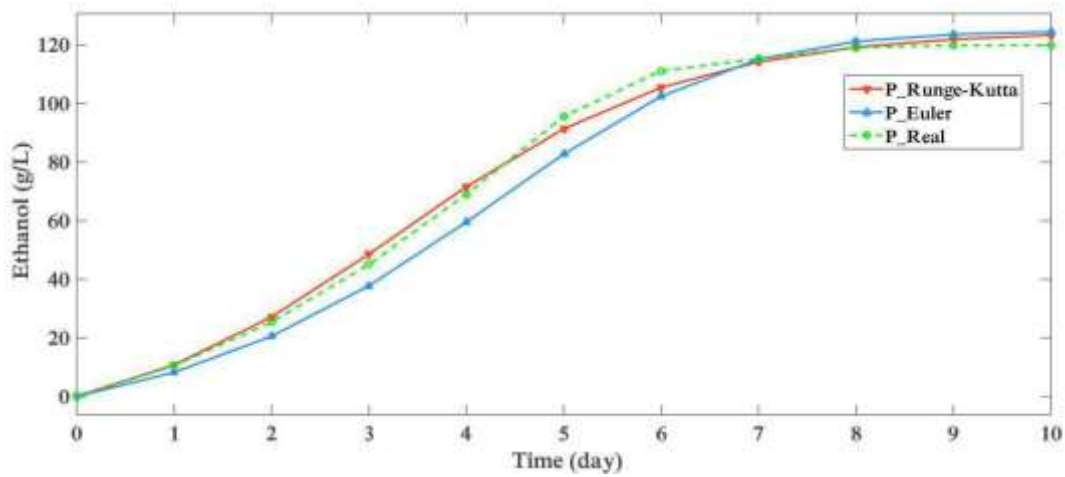
الشكل (3): المخطط الصندوقي لعملية النمذجة



الشكل (4): تركيز الكتلة الحيوية خلال التخمر.



الشكل (5): تركيز الركيزة خلال التخمر.



الشكل (6): تركيز الإيثانول خلال التخمر.

من الجداول (6)، (7)، (8). يُلاحظ أنه بعد يوم واحد من التخمر تنبأَتْ طريقة Runge-Kutta باستهلاك g 16.64 من السكريات. ينتج عن ذلك: إنتاج g 10.7 إيثانول والتي تمثل نحو 64.32% من مجمل كمية السكريات المستهلكة. زيادة الكتلة الحيوية بمقدار g 1.19 والتي تمثل نحو 7.15% من كمية السكريات المستهلكة وبحساب الفرق بين كمية السكريات المستهلكة للإنتاج الإيثانول والكتلة الحيوية مع الكمية الكلية المستهلكة يتبين وجود فارق مقداره g 4.75 والذي يمثل نحو 28.54% من مجمل السكريات الكلية المستهلكة (قد يعود إلى عمليات استقلاب ثانوية أو أخطاء في القياس). ويلاحظ أيضاً في اليوم العاشر من التخمر ارتفاع تركيز الإيثانول المنتج إلى أعلى قيمة له g/l 123.47 والتي تمثل نحو 62.68% من مجمل السكريات المستهلكة وانخفاض تركيز الركيزة إلى g/l 3.01 والتي تمثل 98.5% من مجمل السكريات المستهلكة الكلية. في حين يلاحظ أنّ تركيز الكتلة الحيوية تزداد بتقدم التخمر لتصل إلى أعلى قيمة لها في اليوم العاشر g/l 15.22 أي بزيادة مقدارها g/l 13.72 عن التركيز الابتدائي والتي تمثل 6.97% من مجمل السكريات المستهلكة الكلية. تُظهر النتائج أن الغالبية العظمى من السكريات تُحوّلت إلى إيثانول، مما يعكس كفاءة الخميرة في الإنتاج.

الجدول (6): التركيز المتنبأ به لكل من الركيزة والإيثانول والكتلة الحيوية بطريقة Runge-Kutta.

$X_{Pritacted} g/l$	$P_{Pritacted} g/l$	$S_{Pritacted} g/l$	T day
1.50	0.00	200.00	0
2.69	10.70	183.36	1
4.51	27.13	157.80	2
6.91	48.65	124.23	3
9.46	71.65	88.22	4
11.66	91.46	56.98	5
13.23	105.58	34.39	6
14.21	114.35	19.96	7
14.76	119.34	11.32	8
15.06	122.05	6.19	9
15.22	123.47	3.01	10

الجدول (7): مقارنة كمية السكريات المستهلكة بإنتاج الإيثانول وتشكيل الكتلة الحيوية للنموذج بطريقة Runge-Kutta.

$\Delta(P+X)-S \text{ g}$	$\Delta X_{\text{Pritacted}} \text{ g}$	$\Delta P_{\text{Pritacted}} \text{ g}$	$\Delta S_{\text{Pritacted}} \text{ g}$	T day
4.75	1.19	10.70	16.64	1
12.06	3.01	27.13	42.20	2
21.71	5.41	48.65	75.77	3
32.17	7.96	71.65	111.78	4
41.40	10.16	91.46	143.02	5
48.30	11.73	105.58	165.61	6
52.98	12.71	114.35	180.04	7
56.07	13.26	119.34	188.68	8
58.20	13.56	122.05	193.81	9
59.80	13.72	123.47	196.99	10

الجدول (8): النسبة المئوية لاستهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول وتشكيل الكتلة الحيوية للنموذج بطريقة Runge-Kutta.

$\Delta(P+X)-S \%$	$\Delta X_{\text{Pritacted}} \%$	$\Delta P_{\text{Pritacted}} \%$	$\Delta S_{\text{Pritacted}} \%$	T day
28.54	7.15	64.32	8.32	1
28.58	7.14	64.28	21.10	2
28.66	7.14	64.21	37.88	3
28.78	7.12	64.10	55.89	4
28.95	7.11	63.95	71.51	5
29.16	7.08	63.75	82.81	6
29.42	7.06	63.52	90.02	7
29.72	7.03	63.25	94.34	8
30.03	7.00	62.97	96.91	9
30.36	6.97	62.68	98.50	10

بهدف التقييم الإحصائي للنموذج الرياضي (طريقة Runge-Kutta) وبناءً على الجدول (9)، تمّ حساب المؤشرات الإحصائية التالية لتقييم دقة النموذج في التنبؤ بتركيزات المكونات الثلاثة: معامل التحديد R^2 ومتوسط مربع الخطأ MSE ومتوسط الخطأ المطلق MAE.

الجدول (9): معامل التحديد ومتوسط مربع الخطأ ومتوسط الخطأ المطلق في قياسات X, P, S بطريقة Runge-Kutta.

S	P	X	Runge-Kutta
0.991	0.996	0.987	R^2
66.590	8.035	0.654	MSE
6.811	2.221	0.686	MAE

أما بالنسبة للحل بطريقة Euler، توضح الجداول (10)(11)(12) تنبؤ النموذج بعد يوم واحد من التخمر باستهلاك 12.75 g من السكريات لإنتاج 8.21 g إيثانول، والتي تمثل نحو 64.34% من مجمل كمية السكريات المستهلكة وتزداد الكتلة الحيوية بمقدار 0.91 g والتي تمثل نحو 7.15% من كمية السكريات المستهلكة. وبحساب الفرق بين كمية السكريات المستهلكة للإنتاج الإيثانول والكتلة الحيوية مع الكمية الكلية المستهلكة، يتبين وجود فارق مقداره 3.64 g والذي يمثل نحو 28.51% من مجمل السكريات الكلية المستهلكة. ويلاحظ أيضاً في اليوم العاشر من التخمر ارتفاع تركيز الإيثانول المنتج إلى أعلى قيمة له 124.57 g/l، والتي تمثل نحو 62.93% من مجمل السكريات المستهلكة. في حين يلاحظ أنّ تركيز الكتلة الحيوية تزداد بتقدم التخمر لتصل إلى أعلى قيمة

لها في اليوم العاشر أيضاً 15.34 g/l ، أي بزيادة مقدارها 13.84 g/l عن التركيز الابتدائي والتي تمثل نحو 6.99% من مجمل السكريات المستهلكة الكلية. أما بالنسبة للركيزة فيلاحظ أنّ النموذج بطريقة Euler يتنبأ باستهلاك 197.96 g من السكريات في اليوم العاشر.

الجدول (10): التركيز المتنبأ به لكل من الركيزة والإيثانول والكتلة الحيوية بطريقة Euler.

$X_{\text{Pritacted}} \text{ g/l}$	$P_{\text{Pritacted}} \text{ g/l}$	$S_{\text{Pritacted}} \text{ g/l}$	T day
1.50	0.00	200.00	0
2.41	8.21	187.25	1
3.78	20.53	168.08	2
5.70	37.82	141.16	3
8.12	59.58	107.23	4
10.70	82.83	70.85	5
12.90	102.58	39.69	6
14.31	115.23	19.34	7
14.98	121.34	8.99	8
15.25	123.73	4.32	9
15.34	124.57	2.04	10

الجدول (11): مقارنة كمية السكريات المستهلكة بإنتاج الإيثانول وتشكيل الكتلة الحيوية للنموذج بطريقة Euler.

$\Delta(P+X)-S \text{ g}$	$\Delta X_{\text{Pritacted}} \text{ g}$	$\Delta P_{\text{Pritacted}} \text{ g}$	$\Delta S_{\text{Pritacted}} \text{ g}$	T day
3.64	0.91	8.21	12.75	1
9.11	2.28	20.53	31.92	2
16.81	4.20	37.82	58.84	3
26.57	6.62	59.58	92.77	4
37.12	9.20	82.83	129.15	5
46.33	11.40	102.58	160.31	6
52.63	12.81	115.23	180.66	7
56.19	13.48	121.34	191.01	8
58.19	13.75	123.73	195.68	9
59.54	13.84	124.57	197.96	10

الجدول (12): النسبة المئوية لاستهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول وتشكيل الكتلة الحيوية للنموذج بطريقة Euler.

$\Delta(P+X)-S \%$	$\Delta X_{\text{Pritacted}} \%$	$\Delta P_{\text{Pritacted}} \%$	$\Delta S_{\text{Pritacted}} \%$	T day
28.51	7.15	64.34	6.38	1
28.54	7.15	64.32	15.96	2
28.57	7.14	64.28	29.42	3
28.64	7.14	64.23	46.38	4
28.74	7.13	64.13	64.58	5
28.90	7.11	63.99	80.16	6
29.13	7.09	63.78	90.33	7
29.42	7.06	63.52	95.51	8
29.74	7.03	63.23	97.84	9
30.08	6.99	62.93	98.98	10

من أجل تقييم النموذج المقترح الذي تم حله بطريقة Euler تم حساب R^2 , MSE, MAE لقياسات كل من الركيزة والكتلة الحيوية والإيثانول التي يوضحها الجدول (13).

الجدول (13): معامل التحديد ومتوسط مربع الخطأ ومتوسط الخطأ المطلق في قياسات X, P, S بطريقة Euler.

S	P	X	Euler
0.989	0.987	0.987	R^2
75.207	40.972	0.629	MSE
6.085	5.085	0.512	MAE

مما سبق نستنتج أنّ الحل بطريقة Runge-Kutta أعطى نتائج أفضل وأكثر دقة من الحل بطريقة Euler، وذلك لانخفاض قيم متوسط الخطأ المطلق ومتوسط مربع الخطأ في قياسات الركيزة والإيثانول والكتلة الحيوية في طريقة Runge-Kutta بشكل أكبر عن تلك القيم بطريقة Euler، كذلك ارتفاع قيم معامل التحديد التي تدل على تطابق النتائج مع القيم الحقيقية في طريقة Runge-Kutta.

الاستنتاجات:

- العلاقة بين استهلاك الركيزة وإنتاج الإيثانول علاقة طردية وقوية حيث بلغ معامل الارتباط $R_{S-P} = 0.998$ بالنسبة للعلاقة بين لاستهلاك الركيزة ونمو الكتلة الحيوية فهي علاقة طردية أيضاً وقوية وبلغ معامل الارتباط $R_{S-X} = 0.989$.

- بلغ التركيز الأعظمي للكتلة الحيوية $X_{max} = 15.39 \text{ g/l}$ في اليوم العاشر من التخمير وكان معدل النمو الخاص بخلايا الخميرة $\mu_{max} = 0.674 \text{ h}^{-1}$.

- تفوق طريقة Runge-Kutta لحل النموذج المقترح لنمذجة عملية التخمير على طريقة Euler التي أظهرت نتائج أقل تطابقاً مع القيم الحقيقية.

- حسبت جميع قيم المؤشرات الخاصة بعملية التخمير β التي تعبر عن إنتاج الإيثانول غير المرتبطة بنمو الخميرة $\beta = 0.0 \text{ gP/gX.day}$ وحددت أيضاً قيمة α التي تعبر عن إنتاج الإيثانول المرتبطة بنمو الخميرة $\alpha = 8.998 \text{ gP/gX}$ وتم تقييم قيمة المعدل $m = 0.065 \text{ g S/g X}$ الذي يدل على كمية السكريات المستهلكة في صيانة الكتلة الحيوية حتى في حال غياب النمو.

- استمر طور البدء للخميرة ما يقارب 36 ساعة منذ بدء التخمير. ليبدأ بعدها طور النمو اللوغاريتمي بالتزايد حتى نهاية اليوم الخامس من التخمير فيكون معدل النمو أعظماً فيه، وبلغ 3.9 g/l.day ليبدأ بعدها المعدل بالتناقص والانخفاض تدريجياً وظهور طور الثبات، وينعدم النمو تقريباً في اليوم العاشر من التخمير.

التوصيات:

- دراسة ونمذجة منتجات أخرى غير الإيثانول خلال التخمير لمعرفة كمية الفاقد بين كمية السكريات الكلية والمستهلكة خلال التخمير.

المراجع:

- Agu, K.C.; and M.K. Oduola (2021). Kinetic modeling of ethanol production by batch fermentation of sugarcane juice using immobilized yeast. *Global Journal of Engineering and Technology Advances*. 7(1): 124-136.
- AOAC (2016). Official methods of analysis of Association of Official Analytical Chemists (15th/20th ed.). Arlington, VA: AOAC International. 976.06 p.
- Arshad, M.; Z. Khan; K. Rehman; F. Shah; and M. Rajoka (2008). Optimization of process variables for minimization of byproduct formation during fermentation of blackstrap molasses to ethanol at industrial scale. *The Authors Journal compilation*. 47(1): 410-414.
- Biossen, L. (2001) *The alcoholic fermentation*. California: University of California at Davis, University Extension.
- Caputi, A. Jr.; and D. Wright (1968). Collaborative study of the determination of ethanol in wine by chemical oxidation. *Journal of the AOAC*. 51(3): 85-88.
- Delgado-Noboa, J.; T. Bernal; J. Soler; and J.Á. Peña (2021). Kinetic modeling of batch bioethanol production from CCN-51 cocoa mucilage. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 128(1): 169-175.
- Germec, M.; I. Turhan; M. Karhan; and A. Demirci (2019). Kinetic modeling and techno-economic feasibility of ethanol production from carob extract based medium in biofilm reactor. *Applied Sciences*. 9(10): 2121.
- Hanson, G.; P. Venturelli; and A. Fleckenstein (2006). *Drugs and society* (1st ed.). USA: Jones & Bartlett Learning. 446 p. Retrieved from: <https://www.fas.usda.gov/data/fresh-apples-grapes-and-pears-world-markets-and-trade>
- Jiménez-Islas, D.; J. Páez-Lerma; N.O. Soto-Cruz; and J. Gracida (2014). Modelling of ethanol production from red beet juice by *Saccharomyces cerevisiae* under thermal and acid stress conditions. *Food Technology and Biotechnology*. 52(1): 93-100.
- Liu, L.; Z. Zhang; J. Wang; Y. Fan; W. Shi; X. Liu; and Q. Shun (2019). Simultaneous saccharification and co-fermentation of corn stover pretreated by H₂O₂ oxidative degradation for ethanol production. *Energy*. 168(1): 946-952.
- Madigan, M.T.; J.M. Martinko; K.S. Bender; D.H. Buckley; and D.A. Stahl (2018). *Brock biology of microorganisms* (15th ed.). Pearson. 1032 p.
- Pretorius, I. (2000). Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast*. 16(1): 675-729.
- Sicard, D.; and J. Luc Legras (2011). Bread, beer and wine: Yeast domestication in the *Saccharomyces sensu stricto* complex. *Comptes Rendus Biologies*. 334(3): 229-236.
- Süli, E.; and D. F. Mayers (2023). Comparative analysis of fixed-step ODE solvers in computational biology. *Journal of Numerical Methods*. 15(2): 45-60.

- Suresh, S.; V. Srivastava; S. Sakthivel; and S. Arisutha (2018). Kinetic Modeling of Ethanol Production for Substrate–Microbe System. In *Biorefining of Biomass to Biofuels*; Springer: Berlin/Heidelberg, Germany. 1(1): 361-372.
- Walker, G.M.; and G.G. Stewart (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*. 2(1): 2-30.

Modeling the process of alcoholic fermentation using *Saccharomyces cerevisiae* in MATLAB/Simulink

Yahia Esmail^{1*}, Ramez Mohammad¹ and Oulfat Jolaha²

¹Department of Food Science, Lattakia University, Syria.

²Department of Computer Engineering and Automatic Control, Lattakia University, Syria.



(*Corresponding author: Yahia Esmail, Email: yahia.esmail@tishreen.edu.sy, Tel: +963 936 094505)

Received: 3/ 3/ 2025 Accepted: 5/ 7/ 2025

Abstract

In this study, filtered and purified grape juice was fermented at 25°C, after the juice was inoculated with instant dry yeast *Saccharomyces cerevisiae* ATCC® 2601™ and the fermentation process took 10 days, a sample was taken every 24 hours to measure the total sugars concentration, biomass and ethanol concentration formed during fermentation. The initial conditions were set as follows: initial sugars concentration $S_0=200 \pm 0.059\text{g/l}$, initial alcohol concentration $P_0=0\text{g/l}$, initial yeast concentration $X_0=1.5\text{g/l}$, it was observed that $12.66 \pm 0.071\text{g}$ of sugars were consumed after one day of fermentation to produce $10.52 \pm 0.22\text{g}$ of ethanol, which represents 83.10% of the consumed sugars, and the biomass increased by $0.66 \pm 0.273\text{g}$, which represents 5.21% of the consumed sugars. The consumption of the substrate continues with the increase in the fermentation period, so that the total consumed sugars reached about 95.74% on the tenth day of fermentation, i.e. at a rate of $191.48 \pm 1.291\text{g}$, and the maximum alcohol concentration on the tenth day also reached $120.1 \pm 0.04\text{g/l}$. As for the biomass, the maximum concentration of biomass was $X_{\text{max}}=15.39 \pm 0.04\text{g/l}$ on the tenth day of fermentation, and the growth rate of yeast cells was $\mu_{\text{max}}=0.674/\text{l}$. The process of biomass formation, substrate consumption, and alcohol production were modeled according to three special equations as a function of time, which were solved by Runge-Kutta and Euler methods, where the results of the solution by Euler method outperformed the results of the Runge-Kutta method in the measurements of biomass, substrate, and ethanol due to the low value of the coefficient of Determination R^2 , the mean absolute error MAE, and the mean square error MSE, where the values reached:

$$\begin{array}{lll} R_X^2 = 0.987, & MAE_X = 0.686, & MSA_X = 0.654 \\ R_P^2 = 0.996, & MAE_P = 2.221, & MSE_P = 8.035 \\ R_S^2 = 0.991, & MAE_S = 6.811, & MSE_S = 66.59 \end{array}$$

Keywords: Biomass, Substrate, Differential Equations, Runge-Kutta, Euler.