

انتاج الإيثانول الحيوي من المولاس باستخدام بكتيريا *Zymomonas mobilis*

نسرين نقشو*⁽¹⁾ وعادل سفر⁽²⁾ وأحمد سمور الإبراهيم⁽³⁾

(1). الهيئة العامة للتقانة الحيوية، وزارة التعليم العالي، دمشق، سورية.

(2). قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سورية.

(3). قسم الهندسة الغذائية، كلية الهندسة الكيميائية والبتروولية، جامعة البعث، حمص سورية.

(*المؤلف المعني بالمراسلة: د. نسرين نقشو. البريد الإلكتروني: nisrinnakshoo@yahoo.com)

تاريخ القبول: 2016/01/30

تاريخ الاستلام: 2015/10/17

الملخص

أجري هذا البحث في مخابر الهيئة العامة للتقانة الحيوية في سورية، خلال الفترة الواقعة بين 2011-2013، لاختبار إمكانية انتاج الإيثانول باستخدام السلالة LMG 404 من بكتيريا *Zymomonas mobilis* المستوردة من بلجيكا. وتمت دراسة تأثير كل من درجات الحرارة (25 و 30 و 35 و 40)°م، ودرجات الحموضة (pH) (6 و 6.5 و 7 و 7.5)، وتركيز المادة الجافة (16 و 20 و 24 و 28)% في قدرة هذه السلالة في إنتاج الإيثانول من المولاس الناتج عن صناعة الشوندر السكري. أثبتت الدراسة أن أفضل مردود من الإيثانول باستخدام السلالة LMG 404 قد تم تحقيقه عند درجة حرارة 30 °م و pH 6.5 وتركيز 16% من المواد الصلبة الذائبة (Brix) في المولاس.

الكلمات المفتاحية: مولاس، تخمير، إيثانول، *Zymomonas mobile*.

المقدمة:

الوقود الحيوي هو الطاقة المستمدة من الكائنات الحية سواء نباتية أو حيوانية. وهو وقود صديق للبيئة يعتمد في إنتاجه على تحويل الكتلة الحيوية سواء كانت ممثلة في صورة حبوب أو محاصيل زراعية مثل الذرة وقصب السكر، أو في صورة زيوت نباتية، مثل زيت فول الصويا، وزيت النخيل، وشحوم حيوانية، إلى إيثانول أو ديزل حيوي، مما يعطي إمكانية استخدامهما في الإنارة وتسيير المركبات وإدارة المولدات (Baptista et al., 2006). يستخدم الوقود الأحفوري حالياً لتلبية معظم متطلبات الطاقة في العالم، وهو مسؤول عن إنتاج 73% من غاز ثاني أكسيد الكربون، وزيادة تركيزه في الغلاف الجوي (Yu et al., 2003, Demirbas et al., 2004)، وهذا يساهم في إحداث تغيرات مناخية شديدة لوحظت في العقود الأخيرة (Licht et al., 2007) (Buckeridge et al., 2010). كما أدى استنزاف الاحتياطي من الوقود الأحفوري، وأسعاره غير المستقرة، إلى زيادة التركيز الصناعي على إيجاد مصادر بديلة للطاقة المتجددة وخاصةً من الكتلة الحيوية (Davis et al., 2005) وحث معظم دول العالم للبحث عن مصادر بديلة للطاقة متجددة وقابلة للاستمرار.

يعد الإيثانول الحيوي البديل الأكثر قبولاً في معظم الدول من حيث كونه مصدراً اقتصادياً، ويمكن استخدامه كمصدر للطاقة في محركات السيارات، وغيرها نظراً لقابليته السريعة للاحتراق منفرداً أو عند مزجه مع البنزين (Patil, 1991; Hansen *et al.*, 2005).

من جهة أخرى يعد الكحول الحيوي وقوداً صديقاً للبيئة حيث ينتج عن احتراقه انبعاث كميات قليلة نسبياً من المركبات العضوية الطيارة مثل أحادي أكسيد الكربون وأكاسيد النيتروجين (Altintas *et al.*, 2002; Wyman and Hinman, 1990). ينتج الإيثانول الحيوي بشكل عام من كل مادة عضوية ذات مخزون كربوهيدراتي مرتفع وتقسّم هذه المواد إلى مجموعتين. تضم المجموعة الأولى المواد السكرية والنشوية، أما المجموعة الثانية فهي تشمل المواد السللوزية واللغوسللوزية. يعتبر المولاس من أكثر المواد المستخدمة في إنتاج الإيثانول لاحتوائه على نسبة عالية من السكر. يتم إنتاج الإيثانول الحيوي بواسطة كائنات دقيقة من أهمها خميرة *Saccharomycse cerevisiae* خميرة الخباز التي تقوم بتحويل السكر بسهولة إلى غلوكوز وفركتوز في المرحلة الأولية للتخمير بواسطة أنزيم الإنفرتاز الموجود بين جدار خلية الخميرة والغشاء الخلوي. وذلك باستخدام المولاس بعد تخفيفه إلى درجة التركيز المطلوبة من السكر وضبط درجة الحموضة المناسبة للتخمير (Hinkova and Bubnik, 2001).

بدأت دراسة بكتيريا *Zymomonas mobilis* في إنتاج الإيثانول بشكل كثيف خلال العقود الثلاث الماضية وهناك مطالبات متكررة من بعض الباحثين لتحل هذه البكتيريا محل *S. cerevisiae* في إنتاج الوقود الحيوي. حيث أشار (Bai *et al.*, 2008) إلى أن بكتيريا *Zymomonas mobilis* مناسبة أكثر لإنتاج الكحول من الخميرة لإمتلاكها صفات أفضل فيما لو قورنت بالخميرة. أشار بعض الباحثين إلى أن إنتاجية بكتيريا *Zymomonas mobilis* من الكحول أعلى من الخميرة، لقدرتها العالية على تحمل الكحول، حيث تتحمل أكثر من 120 غ/ل إيثانول ولا تتطلب توفيراً إضافياً للأوكسجين خلال عملية التخمير (Bochner *et al.*, 2010) (Bai *et al.*, 2008).

يتأثر معدل إنتاج الإيثانول بعدة عوامل كدرجة الحموضة ودرجة الحرارة وتركيز المادة الجافة في وسط التخمير. يقع مجال نمو البكتيريا *Z. mobilis* بين 25 و 31 °م ويتباطأ عند الدرجة 15 °م ولوحظ في بعض الدراسات إمكانية نمو البكتيريا ضمن المجال (25-42) °م (Lawford and Rousseau, 2002). كما وجد في دراسات أخرى أن بعض السلالات نمت على درجة حرارة 38 °م ولم تتم على درجة حرارة 40 °م ويمكن أن يحصل التخمير بين درجة حرارة 30-36 °م دون أن يحصل أي تغيير بمرود الإيثانول (Deanda *et al.*, 1996).

تمتلك بكتيريا *Z. mobilis* تحملاً كبيراً لتغيرات pH ما بين (3.5-7.5)، والمجال المثالي لها ما بين 5 و 7 (De Moraes *et al.*, 1981). كما لم يلاحظ الباحث (Buzato, 1984) أي تأثير معنوي لتغير رقم الحموضة بين درجتي 5 و 6 في إنتاجية بكتيريا *Z. mobilis* لكحول الإيثانول على المولاس. ووجد بعض الباحثين أن سلالة *Z. anaerobia* قد نمت في مجال من pH ما بين (3.4 و 7.5)، من جهة أخرى قام الباحث (Sprenger, 1996) بعزل هذه البكتيريا من عصائر التفاح ذات درجات الحموضة التي تتراوح pH فيها بين (3.5 و 7.9) في حين تعذر ذلك ضمن درجات الحموضة المنخفضة (2.5-3.4). كما يعد تركيز السكر في بيئة التخمير عاملاً هاماً في مدى إنتاجية الكحول حيث وجد (Loos *et al.*, 1994) أن الكفاءة العظمى للتخمير للسلالتين ATCC 109888 و ATCC 12526 من بكتيريا *Zymomonas mobilis* كانت عند تركيز سكر 15% وعند زيادة التركيز من 15 إلى 20% لوحظ انخفاض كفاءة التخمير وقد أظهرت السلالتان IFO 13756 و NRRLB 4286 زيادة في كفاءة التخمير عند تركيز سكر 20%، وتناقصت كل من كفاءة التخمير ونسبة الركيزة المستفاد منها عند تركيز سكر 25% لهذه السلالات.

كما وجد (Ahila *et al.*, 1992) أن تخمير المولاس المخفف إلى 25% باستخدام السلالة BL4 من بكتيريا *Z. mobilis* هو الأفضل لإنتاج أعظمي من الإيثانول. وجد (Singh and Jain, 1994) أن محلول سكر القصب الذي تم تخميره بتركيز سكر

18.5 غ/ل قد أعطى مردوداً من الإيثانول قدره 0.5 غ/غ سكر في حين أن مردود الإيثانول كان (0.39 غ/غ سكر) عند التخمر على وسط من المولاس ذو تركيز سكر مماثل. يهدف هذا البحث إلى أمثلة ظروف إنتاج كحول الإيثانول باستخدام بكتيريا *Zymomonas mobilis* ودراسة المردود والإنتاجية ومقارنتها مستقبلاً مع الخميرة لدراسة إمكانية استخدامها كبديل عن خميرة *Saccharomyces cerevisiae* في إنتاج الكحول الإيثيلي.

مواد البحث وطرائقه:

1- مواد البحث:

- 1-1- مولاس شوندر سكري إنتاج شركة سكر الرقة للموسم 2008-2009.
- 1-2- السلالة LMG404 من بكتيريا *Zymomonas mobilis*: (مستوردة من CWBI في بلجيكا) وهي تنتج الإيثانول بتخمير السكر، وهي لاهوائية اختيارية.
- 1-3- اليوريا (شركة SHAM) وفوسفات ثنائية الأمونيوم كمصادر للأزوت والفوسفور.
- 1-4- وسط (YPS) المكون من 10 غ مستخلص الخميرة، 10 غ بيتون، 20 غ سكروز لحجم 1000 مل ماء مقطر.
- 1-5- NaOH (2 نظامي) - H₂SO₄ (2 نظامي) - محاليل قياسية لسكريات السكر والغلوكون والفركتوز.
- 1-6- جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC من نوع KNAUER والعمود NH₂ لتحليل السكريات وكاشف RI وعمود EH-002 لتحديد نسبة الإيثانول.
- 1-7- حاضنة هزازة من نوع (New Brunswick). مثقلة ependorff - ريفراكتومتر - جهاز استقطاب.
- 1-8- المخمر رباعي الأوعية نوع BIOTECH-4GBR. فلاتر بقطر 0.45 ميكرون.

2- طرائق العمل :

- 2-1- تقدير % للسكريات في المولاس:
- قيس تركيز % السكريات في المولاس الخام باستخدام جهاز الإستقطاب وفق طريقة ICUMSA رقم: (1994) GS4-13 (Bartens, 2005). كما تم قياس تركيز المواد الصلبة الذائبة باستخدام الريفراكتومتر وعبر عن النتيجة كنسبة مئوية وفق طريقة ICUMSA رقم: (1994) GS4/7-1 (Bartens, 2005) .
- 2-2- تنمية وإكثار البكتيريا:
- تم تحضير المعلق البكتيري بأخذ مستعمرة من السلالة البكتيرية LMG وتنشيطها على وسط YPS لمدة 24 ساعة على درجة حرارة 37°م باستخدام الحاضنة الهزازة (Mariam et al., 2009).
- 2-3- تحضير وسط التخمر:
- تمت عمليات التخمر على وسط المولاس المعقم والممدد إلى تركيز مواد صلبة ذائبة 16% والمضاف له فوسفات ثنائية الأمونيوم بنسبة 0.17% واليوريا بنسبة 0.06% (كما هو مستخدم في معمل كحول حمص كمصادر للأزوت والفوسفور للبكتيريا).
- 2-4- دراسة تأثير درجة الحموضة:

أجريت التجارب باستخدام مخمر رباعي الأوعية، حيث تم التحكم بدرجات الحرارة والحموضة وضبط التهوية وسرعة الدوران بشكل أوتوماتيكي. وضع 750 مل من وسط التخمر لكل وعاء من أوعية المخمر وتم تعقيمها في الأوتوكلاف على حرارة 121 م° ولمدة 15 دقيقة ثم لقت الأوعية الأربعة بنسبة 10% من معلق البكتيريا لكل وعاء. قيست درجات الحموضة لكل وعاء عن طريق إلكتروادات pH الخاصة بالمخمر وضبطها على الأرقام التالية: 6، 6.5، 7، 7.5، باستخدام NaOH، H2SO4 في بداية التخمر لكل وعاء على التوالي، كما ضبطت درجة حرارة جميع الأوعية إلى 30 م°. أجريت عملية إكثار هوائي لمدة 5 ساعات في المخمر عند سرعة دوران 500 دورة/دقيقة وضغط 1.2 بار وتدفق هواء 50 ل/سا، ثم أجريت المرحلة الثانية من التخمر اللاهوائي لإنتاج الإيثانول، وذلك لمدة 24 ساعة وبسرعة دوران 200 دورة/د ودرجة حرارة 30 م° (Davis et al., 2006). تم سحب عينات من المخمر عند الأزمنة T0 و T24 وثقلت العينات الناتجة باستخدام مثقلة endorff بسرعة دوران 3000 دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق، ورشحت العينات باستخدام فلاتر بقطر 0.45 ميكرون واستخدمت الرشاحة لتقدير كل من السكريات المستهلكة لإنتاج الإيثانول و% للإيثانول الناتج ومن ثم حساب المردود والإنتاجية، لتحديد درجة pH المثلى لإنتاج الإيثانول لسلسلة البكتيريا (Dodic et al., 2009).

2-5- دراسة تأثير درجات الحرارة:

أعيدت تجربة التخمر بعد ضبط تركيز المواد الصلبة الذائبة إلى 16% ودرجة الـ pH إلى 6.5 لجميع الأوعية والتي أعطت المردود الأعلى للإيثانول وتم ضبط درجات الحرارة مرحلة التخمر اللاهوائي إلى 25 م°، 30 م°، 35 م°، 40 م° للأوعية الأربعة والمحافظة عليها طيلة مدة التخمر، كما تم سحب عينات من المخمر عند الأزمنة T0 و T24 لدراسة السكريات والإيثانول.

2-6- دراسة تأثير تركيز المواد الصلبة الذائبة (%Brix):

تم تحضير وسط التخمر كما ذكر سابقاً وبتراكيز مادة صلبة ذائبة (16، 20، 24، 28)% بدءاً من المولاس المركز، وضبطت كل من درجة الحرارة 30 م° و pH المثلى 6.5 والمحددتين في التجارب السابقة لجميع الأوعية في بداية التخمر. سحبت العينات من الأوعية ذات درجات تركيز مادة صلبة ذائبة 16 و 20% عند الزمن T0 و T24، كما تم سحب عينات من الأوعية ذات درجات تركيز مادة صلبة ذائبة (20، 24، 28)%، عند الزمن T48 أيضاً، من أجل دراسة نسبة السكر الأولي والمتبقي والمستهلك والإيثانول الناتج.

2-7- تقدير السكريات والإيثانول:

تم استخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء لتقدير السكريات في وسط التخمر (سكروز، غلوكوز، فركتوز) بحقن 20 ميكروليتر باستخدام العمود NH2 وطور متحرك مكون من الأسيتونتريل بنسبة 85 وماء منزوع الشوارد بنسبة 15 وحرارة العمود 30 م° وتدفق 2.4 مل/د كما تم تقدير % للإيثانول وباستخدام العمود EH-002 وطور متحرك من حمض الكبريت الكثيف ذو درجة حموضة (pH) 2 ومعدل تدفق 0.4 مل/د (Davis et al., 2006).

$$2-8- \text{حساب المردود (\%)} = \left[\frac{\text{السكر المستهلك (غ/100مل)}}{\text{تركيز الإيثانول (مل/100مل)}} \right] \times 100$$

$$\text{حساب الإنتاجية (غ/ل/سا)} = \text{تركيز الإيثانول (غ/1000مل)} \div \text{زمن التخمر.}$$

2-9- التحليل الإحصائي:

استخدم البرنامج الإحصائي SPSS 18 حيث أجريت الاختبارات بثلاثة مكررات، وسجلت النتائج كمتوسطات مع حساب الانحراف المعياري. كما أجري تحليل التباين ANOVA كتجربة عاملية بتصميم القطاعات التامة العشوائية، واستخدم اختبار LSD لحساب معنوية الفروق بين المتوسطات عند مستوى دلالة 5% ($P \leq 0.05$).

النتائج والمناقشة:

1- تأثير درجة الحموضة pH:

يوضح الجدول (1) تأثير درجات مختلفة من الحموضة في إنتاج الإيثانول للسلالة LMG 404 من مولاس الشوندر.

الجدول 1. تأثير درجة pH في إنتاج سلالة LMG 404 لكحول الإيثانول من مولاس الشوندر

الإنتاجية غ/ل/سا	مردود الإيثانول مل/100غ سكر	تركيز الإيثانول مل/100مل	% للسكريات المستهلكة غ/100مل	% للسكريات عند الزمن T24 غ/100مل	% للسكريات عند الزمن T0 غ/100مل	PH
2.23 ± 0.06 ^b	67.53 ± 0.4 ^b	6.8 ± 0.2 ^b	10.06 ± 0.35 ^a	0.8 ± 0.2 ^b	10.86 ± 0.55	6
2.37 ± 0.04 ^a	72.73 ± 0.92 ^a	7.2 ± 0.1 ^a	9.9 ± 0.1 ^a	0.66 ± 0.05 ^b	10.56 ± 0.11	6.5
2.28 ± 0.04 ^{ab}	68.66 ± 1.25 ^b	6.93 ± 0.15 ^{ab}	10.1 ± 0.43 ^a	0.7 ± 0.17 ^b	10.73 ± 0.66	7
1.94 ± 0.05 ^c	64.45 ± 0.42 ^b	5.93 ± 0.11 ^c	9.2 ± 0.2 ^b	1.7 ± 0.2 ^a	10.9 ± 0.2	7.5
0.097	4.260	0.277	0.567	0.317	0.842	LSD_{5%}

تشير الأحرف المختلفة في العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة 5%.

نلاحظ من الجدول (1) أن رقم الحموضة قد أثر بشكل معنوي عند مستوى دلالة 5% في كل من مردود وإنتاجية الإيثانول لسلالة البكتيريا LMG404، حيث أعطت السلالة أعلى قيمة لكل من المردود (72.73 مل/100غ سكر) والإنتاجية (2.37 غ/ل/سا) عند درجة pH 6.5، وأقل قيمة لكل منهما عند درجة pH 7.5، وهذه تتوافق مع النتيجة التي توصل إليها (Karuppaiya *et al.*, 2009).

2- تأثير درجة الحرارة:

يوضح الجدول (2) نتائج تأثير درجات الحرارة في إنتاج الإيثانول للسلالة LMG 404 من مولاس الشوندر وبدرجة pH 6.5

الجدول 2. تأثير درجة حرارة وسط التخمر في إنتاج سلالة LMG 404 لكحول الإيثانول من مولاس الشوندر وبدرجة pH 6.5

الإنتاجية غ/ل/سا	مردود الإيثانول مل/100غ سكر	تركيز الإيثانول مل/100مل	% للسكريات المستهلكة غ/100مل	% للسكريات عند الزمن T24 غ/100مل	% للسكريات عند الزمن T0 غ/100مل	درجات الحرارة °م
2.23 ± 0.06 ^b	63.4 ± 2.95 ^b	6.8 ± 0.2 ^b	10.73 ± 0.25	0.86 ± 0.057 ^a	11.4 ± 0.2	25
2.45 ± 0.04 ^a	70.56 ± 1.04 ^a	7.43 ± 0.11 ^a	10.53 ± 0.25	0.8 ± 0.17 ^{ab}	11.33 ± 0.15	30
2.16 ± 0.06 ^b	62.3 ± 0.43 ^b	6.66 ± 0.15 ^b	10.7 ± 0.3	0.76 ± 0.05 ^{ab}	11.46 ± 0.25	35
2.20 ± 0.06 ^b	62.43 ± 1.53 ^b	6.7 ± 0.17 ^b	10.73 ± 0.05	0.56 ± 0.15 ^b	11.3 ± 0.1	40
0.112	3.312	0.307	0.442	0.231	0.348	LSD_{5%}

تشير الأحرف المختلفة في العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة 5%.

نلاحظ من الجدول (2) أن درجة الحرارة قد أثرت بشكل معنوي عند مستوى دلالة 5% في كل من المردود والإنتاجية لسلالة البكتيريا، حيث أعطت السلالة أعلى قيمة لكل من المردود (70.56 مل/100غ سكر) والإنتاجية (2.45 غ/ل/سا) عند درجة حرارة 30°م، وأقل قيمة لكل منهما عند الدرجة 35°م، وهذه تتوافق مع النتيجة التي توصل إليها (Panesar *et al.*, 2006).

3- تأثير تركيز المواد الصلبة الذائبة أو Brix (%):

يوضح الجدول (3) نتائج تأثير درجات تركيز المادة الجافة في إنتاج الإيثانول للسلالة LMG 404 من مولاس الشوندر.

الجدول 3. تأثير تركيز المواد الصلبة الذائبة (%) أو Brix في وسط التخمر في إنتاج سلالة LMG 404 لكحول الإيثانول من مولاس الشوندر بدرجة pH 6.5 وحرارة 30° م

الإنتاجية غ/ل/سا	مردود الإيثانول مل/100غ سكر	تركيز الإيثانول مل/100مل	% للسكريات المستهلكة غ/100 مل	% للسكريات عند الزمن T24 غ/100 مل	% للسكريات عند الزمن T0 غ/100 مل	T	BX %
2.31 ± 0.05 ^a	70.33 ± 0.55 ^a	7.03 ± 0.15 ^b	10 ± 0.17 ^d	0.76 ± 0.05 ^b	10.76 ± 0.11 ^d	24	16
2.32 ± 0.04 ^a	56.23 ± 1.02 ^c	7.06 ± 0.11 ^b	12.56 ± 0.15 ^c	0.96 ± 0.2 ^b	13.53 ± 0.11 ^c	24	20
1.15 ± 0.0 ^c	55.1 ± 1.44 ^b	7.03 ± 0.2 ^b	12.76 ± 0.05 ^c	0.76 ± 0.15 ^b	13.53 ± 0.11 ^c	48	20
1.24 ± 0.01 ^b	49.13 ± 0.51 ^c	7.56 ± 0.05 ^a	15.4 ± 0.1 ^b	0.96 ± 0.05 ^b	16.36 ± 0.11 ^b	48	24
1.25 ± 0.03 ^b	43.8 ± 2.02 ^d	7.6 ± 0.2 ^a	17.36 ± 0.37 ^a	1.33 ± 0.3 ^a	18.7 ± 0.17 ^a	48	28
0.065	2.275	0.286	0.373	0.332	0.235	LSD 5%	

تشير الأحرف المختلفة في العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى دلالة 5%.

نلاحظ من الجدول (3) أن تركيز المواد الصلبة الذائبة قد أثرت بشكل معنوي عند مستوى دلالة 5% في كل من نسبة الإيثانول والمردود والإنتاجية لسلالة البكتيريا. حيث نلاحظ من الجدول أن زيادة تركيز المواد الصلبة الذائبة قد أدى إلى زيادة تركيز الإيثانول الناتج ولكن ترافق ذلك مع انخفاض المردود والإنتاجية حيث بلغ أعلى مردود 70.33 مل/100 غ سكر عند تركيز مواد صلبة ذائبة 16% بعد 24 ساعة من بدء عملية التخمر وأقل قيمة له عند تركيز مواد صلبة ذائبة 28% بعد 48 ساعة من بدء عملية التخمر، وبلغت 34.56 مل/100 غ سكر. وبالنسبة للإنتاجية فقد كانت أعلى قيمة لها 2.32 غ/ل/سا عند تركيز مواد صلبة ذائبة 20% بعد 24 ساعة من بدء عملية التخمر، وأقل قيمة لها عند تركيز مواد صلبة ذائبة 24% بعد 24 ساعة من بدء عملية التخمر، وبلغت 1.15 غ/ل/سا كما أن للزمن تأثير في عملية التخمر، حيث أثر بشكل عكسي على كل من المردود والإنتاجية اللذين تناقصا بعد 48 ساعة من بدء عملية التخمر. وهذه تختلف مع النتيجة التي توصل إليها (Behera et al., 2012) وهذا يعود إلى الطبيعة الوراثية للسلالة المستخدمة في عملية استقلابها للسكر.

الاستنتاجات:

- 1- يمكن الاعتماد بشكل أساسي على مولاس الشوندر في صناعة التخمر بسبب غناه بالسكر وتوفره ورخص سعره.
- 2- كانت الشروط المثلى لإنتاج الإيثانول باستخدام سلالة البكتيريا *Zymomonas mobilis* هي pH 6.5، حرارة 30° م، وتركيز 16% من المادة الجافة.

- 3- تحقق أعلى مردود للإيثانول باستخدام سلالة البكتيريا بعد 24 ساعة من بدء عملية التخمر.
- المقترحات:

- 1- تطبيق الشروط المثلى في معامل إنتاج الإيثانول المستحصل عليها من خلال النتائج.
- 2- إمكانية تطبيق الشروط المثلى على أنظمة تخمر أخرى.
- 3- استخدام ركائز أخرى في الإنتاج ومقارنتها مع ركيزة المولاس.

- Ahila, V.; S. Bakthavatsalam; and K. Swaminathan (1992). Increased ethanol production by genetically improved *Zymomonas mobilis* strains in batch and immobilized bioreactors. *Journal of Microbial Biotechnology*. 7: 1-8.
- Altintas, M.; K.Ö. Ülgen; B. Kırdar; Z.I. Önsan; and S.G. Oliver (2002). Improvement of ethanol production from starch by recombinant yeast through manipulation of environmental factors. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 640-647.
- Bai, F.; W. Anderson; and M. Moo-Young (2008). Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feed stocks. *Biotechnology advances*. 26: 89-105.
- Baptista, C., J. Coias; A. Oliveira; N. Oliveira; J. Rocha; M.J Dempsey; K.C. Lannigan; and P.S. Benson (2006). Natural immobilization of microorganisms for continuous ethanol production. *Enzyme and Microbial Technology*. 40: 127-131.
- Bartens, A. (2005). International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis Methods Book. 2005. Dr. Albert Bartens KG, Berlin, Pp431.
- Behera, S.; R.C. Mohanty; and R.C. Ray (2012). Ethanol fermentation of sugarcane molasses by *Zymomonas mobilis* MTCC 92 immobilized in *Luffa cylindrica* L. sponge discs and Calcium alginate matrices. *Brazilian Journal of Microbiology*. 43: 1499-1507.
- Bochner, B.; V. Gomez; M. Ziman; S. Yang; and S.D. Brown (2010). Phenotype microarray profiling of *Zymomonas mobilis* ZM4. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 161: 116-123.
- Buckeridge, M.S.; W.D. Santos; and A.P. Souza (2010). As rotas para o etanol celulósico no Brasil. In L.A.B.C. (Org.) (ed.) Bioetanol da cana-de-açúcar: P&D para produtividade esustentabilidade. 365-380.
- Buzato, J. (1984). Estudo de alguns fatores e condições que afetam a fermentação alcoólica por *Zymomonas mobilis* CP4.
- Davis, L.; Y. Jeon; C. Svenson; P. Rogers; J. Pearce; and P. Peiris (2006). Evaluation of *Zymomonas mobilis* -based ethanol production from a hydrolysed waste starch stream. *Biomass and Bioenergy*. 30: 809-814.
- Davis, L.; Y.J. Jeon; C. Svenson; P. Rogers; J. Pearce; and P. Peiris (2005). Evaluation of wheat stillage for ethanol production by recombinant *Zymomonas mobilis*. *Biomass and Bioenergy*. 29: 49-59.
- De Moraes, J.F.; J. Araújo; and E. Rios (1981). Fermentação alcoólica de mosto de melão em escala semi industrial por *Zymomonas mobilis*. *Rev. Instit. Antibiot*. 20: 3-10.
- Deanda, K.; M. Zhang; C. Eddy; and S. Picataggio (1996). Development of an arabinose-fermenting *Zymomonas mobilis* strain by metabolic pathway engineering. *Applied and Environmental Microbiology*. 62: 4465-4470.
- Demirbas, M.F.; K. Bozbas; and M. Balat (2004). Carbon dioxide emission trends and environmental problems in Turkey. *Energy, Exploration and Exploitation*. 22: 355-365.
- Dodic, S.; S. Popov; J. Dodic; J. Rankovi; Z. Zavargo; and R.J. Mucibabic (2009) . Bioethanol production from thick juice as intermediate of sugar beet processing. *Biomass and Bioenergy*. 33:822-827.

- Hansen, A.C.; Q. Zhang; and P.W. Lyne (2005). Ethanol diesel fuel blends a review. *Bioresource Technology*. 96: 277-285.
- Hinkova, A.; and Z. Bubnik (2001). Sugar beet as a raw material for bioethanol production. *Czech Journal of Food Sciences*. 19: 224-234.
- Karuppaiya, M.; E. Sasikumar; T. Viruthagiri; and V. Vijayagopal (2009). Optimization of process conditions using response surface methodology (RSM) for ethanol production from waste cashew apple molasses by *Zymomonas mobilis*. *Chem Eng Commun*. 196: 1425-1435.
- Lawford, H.G.; and J.D. Rousseau (2002). Performance testing of *Zymomonas mobilis* metabolically engineered for co fermentation of glucose, xylose, and arabinose. *Biotechnology for Fuels and Chemicals*. Springer, 429-448.
- Licht, A.N.; C. Goldschmidt; and S.H. Schwartz (2007). Culture rules: The foundations of the rule of law and other norms of governance. *Journal of Comparative Economics*. 35: 659-688.
- Loos, H.; R. Krämer; H. Sahm; and G.A. Sprenger (1994). Sorbitol promotes growth of *Zymomonas mobilis* in environments with high concentrations of sugar: evidence for a physiological function of glucose-fructose oxidoreductase in osmoprotection. *Journal of Bacteriology*. 176: 7688-7693.
- Mariam, I.; K. Manzoor; S. Ali; and I. Ulhaq (2009). Enhanced production of ethanol from free and immobilized *Saccharomyces cerevisiae* under stationary culture. *Pak. J. Bot.*, 41: 821-833.
- Panesar, P.S.; S.S. Marwaha; and J.F. Kennedy (2006). *Zymomonas mobilis*: an alternative ethanol producer. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 81: 623-635.
- Patil, S. (1991). Novel additives activate alcoholic fermentation. eds. *Yeast, Molecular Biology and Biotechnology: Proceedings of the International Symposium on Molecular Biology of Yeast in Relation to Biotechnology*, New Delhi, India, January 1990 Omega Scientific Publishers, 217.
- Piccolo, C.; and F. Bezzo (2009). A techno-economic comparison between two technologies for bioethanol production from lignocellulose. *Biomass and Bioenergy*. 33: 478-491.
- Singh, A.; and V. Jain (1994). Fermentation kinetics of *Zymomonas mobilis* on sucrose and other substrates-a comparative study. *Indian Journal of Microbiology*. 34: 205-212.
- Sprenger, G.A. (1996). Carbohydrate metabolism in *Zymomonas mobilis*: a catabolic highway with some scenic routes. *FEMS microbiology letters*, 145: 301-307.
- Wyman, C.E.; and N.D. Hinman (1990). Ethanol: Fundamentals of ethanol production from renewable feedstock and use as a transportation fuel. *Appl. Biochem. Biotechnol*. 24(25): 735-753.
- Yu, J.; A. Corripio; D. Harrison; and R. Copeland (2003). Analysis of the sorbent energy transfer system (SETS) for power generation and CO₂ capture. *Advances in Environmental Research*. 7: 335-345.

Production of Bio ethanol from Molasses Using *Zymomonas Mobilis* Bacteria

Nisrine Nakshoo^{*(1)} Adel Safar⁽²⁾ and Ahmad Alebrahim⁽³⁾

(1). National Commission for Biotechnology, Ministry of High Education, Damascus, Syria.

(2). Food Science Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.

(3). Food Engineering Department, Faculty of Chemical and Petroleum Engineering, Albaath University, Homs, Syria.

(*Corresponding author: Dr. Nisrine Nakshoo, E-Mail: nisrinnakshoo@yahoo.com).

Received: 17/10/ 2015

Accepted: 30/01/ 2016

Abstract:

This research was carried out in the National Commission for Biotechnology in Syria, during 2011-2013. The aim of this research was to study to effect of some growth parameters on production of ethanol using LMG 404 strain of *Zymomonas mobilis* bacteria, which was imported from Belgium. Four levels of temperature (25, 30, 35 and 40° C), and pH values (6, 6.5, 7 and 7.5), and Brix% (16, 20, 24 and 28) were studied on the ability of this strain to produce ethanol from sugar beet molasses. The results showed that the highest ethanol production was at 30° C, pH=6.5, and Brix=16%.

Key words: Molasses, Fermentation, Ethanol, *Zymomonas mobilis*.