جامعة الفيوم

كلية الزراعة

إنتاج الديزل الحيوي بواسطة الخمائر

رسالة مقدمة من

ليلى رمضان عبدالحليم بيومى

كجزء من متطلبات الحصول على

درجة الدكتوراه في العلوم الزراعية

(الميكروبيولوجيا الزراعية)

قسم الميكروبيولوجيا الزراعية

كلية الزراعة

جامعة الفيوم

2019

إنتاج الديزل الحيوي بواسطة الخمائر

رسالة مقدمة من

ليلى رمضان عبدالحليم بيومى

بكالوريوس العلوم الزراعية (علوم وتكنولوجيا الأغذية) - كلية الزراعة - جامعة الفيوم 2010

ماجستير الميكروبيولوجيا الزراعية - كلية الزراعة - جامعة الفيوم 2015

كجزء من متطلبات الحصول على

درجة الدكتوراه في العلوم الزراعية

(الميكروبيولوجيا الزراعية)

لجنة الاشراف العلمي:

1- أ.د/ سالم عبد الفتاح محفوظ

أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجيا الزراعية - قسم الميكروبيولوجيا الزراعية - كلية الزراعة - جامعة الفيوم

التوقيع **.....**

2- د/ ياسر فتحى عبدالعليم

مدرس الميكروبيولوجيا الزراعية - قسم الميكروبيولوجيا الزراعية - كلية الزراعة - جامعة الفيوم

التوقيع .....

قسم الميكروبيولوجيا الزراعية

كلية الزراعة

جامعة الفيوم

2019

إنتاج الديزل الحيوي بواسطة الخمائر

رسالة مقدمة من

ليلى رمضان عبدالحليم بيومى

للحصول على درجة الدكتوراة
في
الميكروبيولوجيا الزراعية

لجنة الحكم والمناقشة

1-أ.د. أحمد رفعت عبدالله منصور
أستاذ الميكروبيولوجيا المتفرغ - قسم الميكروبيولوجيا الزراعية- كلية الزراعة - جامعة المنيا
التوقيع..... .....

2-أ.د. ربيع محمد أحمد الشهاوي
أستاذ الميكروبيولوجيا المتفرغ - قسم الميكروبيولوجيا الزراعية - كلية الزراعة - جامعة الفيوم
التوقيع .....

3-أ.د/ سالم عبد الفتاح محفوظ (مشرفاً)
أستاذ ورئيس قسم الميكروبيولوجيا الزراعية- قسم الميكروبيولوجيا الزراعية - كلية الزراعة - جامعة الفيوم
التوقيع.....

التاريخ / /

2019

الملخص العربي

ركزت العديد من الدراسات على إنتاج الديزل الحيوي بواسطة الخمائر لأسباب عديدة مثل,أن استخدام الديزل الحيوي يقلل من الانبعاثات السامة ويرجع ذلك إلى ارتفاع رقم الأوكتان له وقلة محتواه من الكبريت, تنمية الخمائر لا تتأثر بالظروف البيئية, والإنتاج الموسمي أو الموقع الجغرافي, كما فى حالة الزيوت النباتية.

الكائنات الحية الدقيقة المخزنة للدهون والتى تسمى أيضاً بالكائنات الزيتية لها القدرة على تراكم الدهون بنسبة أكبر من 20% من الوزن الجاف للخلايا.

تهدف هذه الدراسة إلى البحث عن الخمائر المنتجة للدهون والتى لها خصائص تجعلها واعدة فى إنتاج الديزل الحيوي واستخدام مخلفات قليلة التكلفة كمصدر للكربون لإنتاج الدهون.

النتائج المتحصل عليها من هذه الدراسة يمكن تلخيصها فيما يلي:

1. **عزل وحصر الخمائر الزيتية من مصادر مختلفة**

تم الحصول على أربع وسبعين عزلة من الخمائر من مصادر مختلفة, تتضمن 19 عزلة من التربة, 5 من التمر, 10 من الجوافة, 4 من الرمان, 8 من العنب, 1 من المربى, 4 من العسل الأسود, 1 من عسل النحل, 3 من اللبن الخام, 5 من الزبادي البلدي, 4 من عصير المانجو, 7 من عصير القصب, 2 من المخللات (الجزر و البصل), و1 من البترول وتم فحص الخصائص المورفولوجية للخمائر باستخدام الميكروسكوب الضوئي.

2. **فرز ووصف الخمائر الزيتية**

تم الكشف عن قدرة الخمائر المعزولة على تراكم الدهون باستخدام صبغة أسود سودان لصبغ الخلايا المنماة على بيئة محدودة النيتروجين. أوضح الفحص الأولي للعزلات أن 59 عزلة من الخمائر لها القدرة على تراكم الدهون داخل خلاياها.

3. **للقدير الكميً لمحتوى الدهون**

تم التقدير الكمي لمحتوى الخلايا من الدهون % لعزلات الخمائر المنتقاة بعد تنميتها على بيئة محدودة النيتروجين و لوحظ وجود اختلاف واسع فى محتوى الدهون % بين العزلات المختبرة, فقد أعطت بعض العزلات قيمً مرتفعة من المحتوى الدهني كما هو واضح فى العزلات LPI 68, LPI 65, LPI 54, LPI 51, LPI 24.

4. **تأثير اختلاف تركيز الجلوكوز فى البيئة محدودة النيتروجين على إنتاج الدهون**

كان الجلوكوز أكثر عامل مؤثر على إنتاج الدهون من الخمائر. أعلى وزن جاف للكتلة الحيوية للخلايا وإنتاج الدهون كان عند تركيز 70 و 100 جم جلوكوز/ لتر.

5. **تأثير اختلاف طريقة استخلاص الدهون على المحتوى الدهني**

تم استخلاص الدهون من الكتلة الحيوية لخلايا العزلة LPI 68 بخمس طرق مختلفة لتحديد أفضل طريقة لاستخلاص الدهون لاستخدامها لإتمام بقية التجارب وأوضحت النتائج أن أفضل طريقة لاستخلاص الدهون كانت طريقة Bligh وDyer المعدلة (1959).

6. إمكانية استخدام المخلفات كمصدر للكربون لإنتاج الدهون

- **1.6 . تأثير استخدام مولاس قصب السكر كمصدر للكربون لإنتاج الدهون**

أعلى إنتاج للدهون عند استخدام مولاس قصب السكر كان عند استخدام 83.2 و 145.8 جم مولاس/ لتر.

- **2.6. تأثير استخدام برمييت الشرش كمصدر للكربون لإنتاج الدهون**

عند استخدام برمييت الشرش كمصدر وحيد للكربون وعند استخدامه مع الجلوكوز كمصدر للكربون أعطى أفضل إنتاج للدهون عند استخدامه مع الجلوكوز 20جم/ لتر مع العزلات LPI 68, LPI 65, LPI 54, LPI 51, بينما كان أفضل إنتاج للدهون عند استخدام برمييت الشرش كمصدر وحيد للكربون دون إضافة الجلوكوز مع العزلة LPI 24 .

- **3.6. تأثير استخدام تركيزات مختلفة من مخلفات زيت السيارات كمصدر للكربون على إنتاج الدهون من الخمائر**

عند استخدام مخلفات زيت السيارات كمصدر للكربون أوضحت النتائج أن عزلات الخمائر يمكنها أن تنتج الدهون عند تركيزات مختلفة من الزيت في البيئة ويختلف التركيز الأمثل من الزيت بين كل عزلة وأخرى.

- **4.6. تأثير استخدام تركيزات مختلفة من مخلفات زيت الطعام كمصدر للكربون على إنتاج الدهون من الخمائر**

عند استخدام مخلفات زيت الطعام كمصدر للكربون أوضحت النتائج أن عزلات الخمائر يمكنها أن تنتج الدهون عند تركيزات مختلفة من الزيت في البيئة ويختلف التركيز الأمثل من الزيت بين كل عزلة وأخرى.

- **5.4.6. تأثير استخدام تركيزات مختلفة من مخلفات المسلي الصناعي كمصدر للكربون على إنتاج الدهون من الخمائر**

عند استخدام مخلفات المسلي الصناعي كمصدر للكربون أوضحت النتائج أن عزلات الخمائر يمكنها أن تنتج الدهون عند تركيزات مختلفة من المسلي الصناعي في البيئة ويختلف التركيز الأمثل من الزيت بين كل عزلة وأخرى.

7. مقارنة بين تأثير استخدام المخلفات المختلفة مع الجلوكوز كمصدر للكربون على إنتاج الدهون

عند المقارنة بين المخلفات المختلفة المستخدمة كمصدر للكربون على إنتاج الدهون من العزلات المختبرة وجد أن أفضل إنتاج للدهون كان من برمييت الشرش للعزلات LPI 24 , LPI 54 وكان من مخلفات زيت الطعام للعزلة LPI 68 وكان من مخلفات زيت السيارات LPI 65 للعزلة وكان من مولاس قصب السكر للعزلة LPI 51.

8. تحديد ظروف التخمير المثلى لإنتاج الدهون من الخمائر

تم اختبار اختلاف تركيب بيئة الإنتاج ودرجة الحموضة فيها ومدة التخمير ودرجة حرارة التخمير على الإنتاج وأوضحت النتائج أنه يحدث تراكم للدهون عند ظروف تختلف بين كل عزلة وأخرى وعموماً كانت البيئة رقم 5 هى أفضل بيئة للإنتاج وتراوحت درجة الحموضة المثلى بين العزلات من 5 إلى 6 عند درجة حرارة 28 و 35 درجة مئوية لمدة تتروح بين 96 إلى 144 ساعة.

9. تحليل الأحماض الدهنية للدهون المستخلصة

أوضح تحليل الأحماض الدهنية للدهون المستخلصة من العزلتين LPI 65 و LPI 68 أنها تحتوى على جليسريدات ثلاثية تتشابه مع الموجودة فى الزيوت النباتية وتشمل الأحماض الدهنية الأوليك واللينوليك والبالميتوليك والبالميتك, كانت أعلى نسبة للحمض الدهني الأوليك بنسبة تتراوح بين 34.41% و 59.84% يليه الحمض الدهني اللينوليك بنسبة تتراوح بين 9.68% و 19.96%.

10. تعريف عزلات الخمائر

تم تعريف العزلتين LPI 65, LPI 68 باستخدام الطرق الوراثية حيث أظهرتا أفضل النتائج لإنتاج الدهون والتى يتشابه تركيبها مع تركيب الزيوت النباتية و كانت نتيجة التعريف هى السلالتين *Pichia occidentalis* MH879824 *Pichia kudriavzevii* MH879825على التوالى.