

انتاج الايثانول من الشرش بوساطة مزيج من الخمائر

د. جاسم حلو نعمة* & همسة عماد عبد الواحد *

تاريخ التقديم: 2009/10/22

تاريخ القبول: 2010/4/1

الخلاصة

هدفت الدراسة الى تحسين انتاج الايثانول من الشرش الخام باعتماد المزارع المشتركة بين الخمائر المخمرة للاكتوز والتي تم عزلها من الشرش ، والمزارع المشتركة بين هذه الخمائر المعزولة وخميرة الخبز . *S. cerevisiae* وتحت امثل الظروف من الـ pH ودرجة الحرارة ، ثم دراسة تأثير سرعة الرج المختلفة في الانتاج وشملت الدراسة: عزل وتشخيص الخمائر من الشرش . ودراسة تأثير تركيز اللاكتوز و السدالة الحامضية في عمل كل خميرة تخمر اللاكتوز من خلال اجراء تجارب لانتاج الايثانول والكتلة الحية من تراكيز مختلفة للاكتوز في بيئة الشرش و اجراء تجارب لانتاج الايثانول والكتلة الحية من الشرش الخام والشرش المدعوم بالمغذيات مثل ($MgSO_4$, NH_4Cl , K_2HPO_4) بوساطة خميرة *S. cerevisiae* . وعند قيم مختلفة للـ pH و 35م مدة يومين .

أستعمل مزيج المزارع المذكور اعلاه لانتاج الايثانول والكتلة الحية من تراكيز مختلفة للاكتوز في الشرش. درس تأثير سرعة الرج المختلفة في انتاج الايثانول من الشرش ، بوساطة أفضل مزرعة منتجة ، تحت تأثير اربع سرعة رج (50، 100، 150، 200) دورة/دقيقة وعند الـ 5 pH وتركيز 6 % لاكتوز و 35م مدة يومين . وكانت نتائج الدراسة كالاتي: تم الحصول على عزلتين من الخميرة هما *C. kefir-S* و *C. kefir-T* من وسط الشرش الخام. عدم قدرة خميرة *S. cerevisiae* على انتاج الايثانول من الشرش الخام والشرش المدعوم بالمغذيات ، ولكن قدرتها على انتاج الكتلة الحية من وسط الشرش الخام والمدعوم بالمغذيات ، بالمقابل لوحظ قدرة عزلتي *C. kefir* على انتاج الايثانول والكتلة الحية في تراكيز الشرش الخام وان العزلة (T) هي الافضل انتاجاً من العزلة (S). تم الحصول على أفضل انتاج (5.1%) ايثانول من تركيز (6%) لاكتوز شرش فقط وبوساطة المزرعة المشتركة بين عزلتي *C. kefir* . افضل انتاج للايثانول (11.4%) حصل عند سرعة رج (150) دورة/ دقيقة في حين استمرت الكتلة الحية في الزيادة الى تركيز (12.1%) عند سرعة الرج (200) دورة/ دقيقة باستعمال المزرعة المشتركة لعزلتي *C. kefir* في الشرش (لاكتوز 6%).

الكلمات المرشدة: الايثانول ، الشرش ، مزيج من الخمائر

Ethanol Production From Whey By Mixed of Yeast

Abstract

The study is aimed to improve of ethanol production from crude whey dependency on mixed culture of lactose-fermenting yeasts and baker's yeast (*S.cerevisiae*) under optimum condition of pH and mixture of sugars concentration, hence studying the effect of defferent agitated speeds on ethanol production. The study was included:

- Isolation and Identification of yeasts from whey

- Studying the effect of sugar concentration and pH value in working of each yeast through making experiments for Ethanol and Biomass production from different concentrations whey lactose and experiments, to produce ethanol and Biomass from crude and supplemented whey, by (K_2HPO_4 , NH_4Cl , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) by using *S.cerevisiae* at different pH values, 35 °C for two days .
- mix-culture of yeasts above were used for producing ethanol and biomass from different whey Lactose concentrations.
- Studying effects of defferent agitated speeds on ethanol production from whey by the beast co-culture producer , under four Agitated speeds (50, 100, 150, 200) rpm under optimum determined pH5, (6)% lactose concentration ,35°C for two days.
- **The results was:**
- Obtained two Isolated yeast strains *C.kyfer-T*, and *C.kyfer-S* from crude whey.
- Incapable of *S.cerevisiae* to produce ethanol from all concentrations of synthetic lactose ,crude ,and additive whey lactose , but it able to produce biomass from each type of lactose , the abilty of both *C.kyfer* strains to produce ethanol and biomass, and *C.kyfer-T* is the beast producer.
- The beast ethanol production was (5.1)% from only(6)% whey lactose by mix-culture of (*C.kyfer-T* + *C.kyfer-S*).
- the best was (11.4)% ethanol at (150)rpm , while biomass production was contineous increasing , and the best production was (12.1)% biomass at (200) rpm by mix-culture of (*C.kyfer-T* + *C.kyfer-S*).

المقدمة

يحتوي الشرش الأنموذجي على (6-5%) لاكتوز و (0.8-1%) بروتين و (0.06%) دهون مشكلاً مصدراً مهماً للتلوث البيئي وذلك بسبب محتواه العضوي العالي (Longhi *et al.*, 2004) والذي يتطلب قيماً عالية من الأوكسجين الحياتي (BOD) تقدر بحوالي (50) g/L (Ozmihici & Kargi, 2007) إن من الممكن أن يتحول الشرش بما يحويه من بقايا عضوية ناتجة من صناعة الألبان إلى ربح إقتصادي في حالة إتباع تقنيات عملية مناسبة (Pesta *et al.*, 2007). إن عملية إنتاج الإيثانول من الشرش مباشرةً غير مرغوبة اقتصادياً وذلك بسبب المحتوى الواطئ للشرش من اللاكتوز (5-6%) وزن/حجم والذي ينتج تراكيز من الإيثانول لا تتجاوز (2-3)% و/ح (Pedro *et al.*, 2008). وهذا ملاحظه Owais و Zafar عام (2005) عند

تمت دراسة استخدام فضلات الصناعات الغذائية مثل شرش الجبن في إنتاج الإيثانول باعتبارها مادة خام متوفرة، رخيصة الثمن، و غنية المحتوى الكربوهيدراتي المتمثل باللاكتوز. إذ إن كل (9) لتر من الشرش يعادل (0.45) كغم لاكتوز (Pedro *et al.*, 2008). يُنتج الشرش الذي يمثل الجزء المائي المتولد كفضلات من صناعة الجبن بكميات كبيرة، إذ تولد صناعة كغم واحد من الجبن حوالي (9-10) لتر من الشرش (Gerba *et al.*, 2002) وبذلك قدر الإنتاج العالمي للشرش بأكثر من 100 مليون طن سنوياً (Ozmihici & Kargi, 2006) ويختلف الشرش في تركيبه من صناعة إلى أخرى اعتماداً على نوع الحليب المستعمل والجبن المنتج. ويحتوي الشرش بصورة عامة على (55) % من المكونات الغذائية للحليب المستعمل (Siso, 1996).

المزارع المشتركة المقيدة والحررة لخميرتي (*S. cerevisiae* و *K.marxianuus*) . وتحتاج عمليات التخمير الى الرج للحفاظ على تجانس الوسط خلال النظام التخميري وللحصول على توزيع مناسب للحرارة في الوسط ، ولتوفير تماس جيد بين الاحياء المجهرية وموادها الاساس (Ghaly & Mahmoud, 2003) من خلال الحفاظ على توازن بين تراكيز المواد داخل وخارج الخلايا وذلك بالتجهيز الكافي للخلايا بالسكريات والمواد الغذائية وتسريع ازالة الغازات والنواتج العرضية من المحيط الميكروبي (Atkinson & Mavitunae, 1985) ان تحريك وسط التخمير يشجع عملية التخمير بالاكسجين المطلوب ويساعد على حصول جميع خلايا الخميرة على الاوكسجين المناسب (Lyons, 1967) وبالرغم من ان عملية إنتاج الإيثانول بوساطة الخمائر تكون في ظروف لاهوائية إلا انه توجد هناك حاجة قليلة جداً الى الأوكسجين لدعم الخلايا المنتجة للكحول .

درس (Varela et al., 1992) تأثير نسبة الاوكسجين المجهز في عملية إنتاج الإيثانول من الشرش بوساطة خميرة *Kluyveromyces fragilis* ولاحظوا تحسناً في الإنتاج عند زيادة نسبة الاوكسجين المجهز (0-14) ملي مول/لتر وإن زيادة أكثر تقلل من إنتاج الإيثانول وتحفز على إنتاج الكتلة الحية لذلك لابد من السيطرة على نسبة الاوكسجين المجهز خلال التخمير للحصول على التوازن المطلوب بين تخليق الكتلة الحية وإنتاج الإيثانول.

المواد وطرائق العمل

أعدت خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* الجاهزة ذات المنشأ التجاري التركي (YUVA) وعزلتان من الخمائر المخمرة لسكر اللاكتوز تم عزلهما من نموذج الشرش وفقاً لما ذكره (Ozmihici & Kargi, 2006)

استعمال الشرش الخام الحاوي على تركيز (3.5%) لاكتوز لإنتاج الإيثانول بوساطة خميرة *Kluyveromyces*. وحصل فقط على 2.1 غم / لتر إيثانول. بينما حصل Gawel و Kosikowski عام (1978) على (10%) و/ح إيثانول عند أستعمالهما تراكيز مختلفة من محلول رائق الشرش المركز الحاوي على (22-24%) لاكتوز بوساطة خميرة *Kluyveromyces fragilis*.

وحصل (Castillo et al., 1982) على (8.35) غم/لتر إيثانول خلال (22) ساعة من تخمير رائق الشرش الحاوي على (7%) لاكتوز بوساطة خميرة *Candida Pseudotropicalis* وأستعمل Taya وجماعته في عام (1984) سلالة مهجنة ناتجة من اندماج سلالة خميرة *S.cerevisiae* وسلالة *K.lactis* ولاحظوا زيادة في سرعة إنتاج الإيثانول عند أستعمال خميرة *K.lactis* لوحدها ودرس (Ghaly & El-Taweel, 1994) تأثير إضافة المغذيات (كبريتات الامونيوم و فوسفات البوتاسيوم و مستخلص الخميرة) في إنتاج الإيثانول من الشرش بوساطة خميرة *Candida pseudotropicalis* و حصلوا على اعلى إنتاج (2.17) غم/لتر إيثانول، عند اعتماد تركيز (0.01%) من مستخلص الخميرة.

وأنتج (41-59) غم/لتر إيثانول من تخمير رائق الشرش الحاوي على تراكيز مختلفة (100-120) غم/لتر لاكتوز، بوساطة خميرة *Candida pseudotropicalis* (Szciodrok et al., 1997).

وأستعمل Guimaraes وجماعته عام (2005) المخمر الحياتي لإنتاج الإيثانول من اللاكتوز وحصلوا على (5.7) غم/لتر إيثانول عندما كان تركيز اللاكتوز 50 غم/لتر.

وتوصل Guo وجماعته في عام (2008) الى زيادة في إنتاج الإيثانول من محلول مسحوق الشرش عند أستعمالهم

S. cerevisiae . حضنت الدوارق جميعا في الحاضنة عند درجة (30) م° مدة (48) ساعة .

انتاج الايثانول من لاكتوز الشرش باستعمال المزارع المشتركة :
تم تحضير (28) دورقا زجاجيا يحتوي على التراكيز اعلاه من لاكتوز الشرش وضبط ايون الهيدروجين عند 5 pH وعقمت الدوارق . ثم لقت كل سبعة تراكيز مختلفة باحدى المزارع المشتركة : (*Candida kefir + S. cerevisiae*) (T -) او (*C. + S. cerevisiae*) (*C. kefir -T*) او (*C. + S. cerevisiae*) (*C. kefir -S*) و حضنت الدوارق كما في اعلاه .

تأثير الرج على انتاج الايثانول من الشرش بوساطة المزارع المشتركة للخمائر .

حضرت (4) مكرارات من التركيز الافضل من لاكتوز الشرش والمزرعة المشتركة الافضل انتاجا للايثانول من و حضنت المكررات في الحاضنة الهزاة عند درجة حرارة (35) م° ، تحت تأثير اربع سرع رج مختلفة (200,150,100,50) دورة / دقيقة مدة (48) ساعة .

لحساب تركيز الايثانول، طبقت طريقة الجمعية الامريكية للتحليل الكيميائي المعتمدة على خاصية الكثافة وبأستخدام قنينة الكثافة (Perry & Pycnometer) (Chitton, 1971) وذلك بعد اجراء عملية الطرد المركزي على (10) مل من أنموذج التخمر وبأستعمال قوة طاردة مقدارها 3500 دورة في الدقيقة ومدة (15) دقيقة ، ثم فصل الراشح لحساب تركيز الايثانول فيه .

وللمقارنة تم حساب تركيز الايثانول نوعيا لخمس عينات في وزارة العلوم والتكنولوجيا وبأستخدام جهاز الكروماتوغراف الغازي ، ووجد أن النتائج

ثم تشخيصهما في مختبر الصحة العامة المركزي وحدة التشخيص / الفطريات وظهرت العزلتان هما (*Candida kefir-T*) و (*Candida kefir-S*) .
حضر اللقاح بتركيز 5% من عزلات الخمائر الثلاثة وحسب عدد الخلايا 2×10^7 خلية / مل باستعمال حجيرة ثوماس كما استعملها (Moor, 1983) .

أستعمل شرش الجبن الذي جمع من معمل الأسحاق لصناعة الألبان الواقع في منطقة (كمب سارة في بغداد) في قناني معقمة محكمة الغلق نقلت داخل صناديق مبرده الى المختبر ثم حفظ في الثلاجة لحين الأستعمال .

انتاج الايثانول من لاكتوز الشرش بأستعمال الخمائر المفردة :
حضر (105) دورقا زجاجيا سعة (500) مل تحتوي على تراكيز مختلفة % (2, 6, 8, 10, 12, 14) من لاكتوز الشرش الخام الذي تم حساب تركيز اللاكتوز فيه (%4) ، بأستعمال جهاز (Refractometer) ، وتم تحضير التراكيز بتخفيف الشرش للحصول على تراكيز (%2) ، وبإضافة اوزان مختلفة (2, 4, 6, 8, 10) غرام من اللاكتوز الصناعي للحصول على تراكيز % (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14) بالتتابع . ضبطت الدوارق عند قيم pH (3, 4, 5, 6, 7) .

عقمت الدوارق جميعا .
لقت كل (35) دورقا بنوع واحد من اللقاح المفرد من (*S. cerevisiae*) او العزلة (*Candida kefir -T*) او العزلة (*Candida kefir -S*) منفردة .
حضر (14) دورقا زجاجيا سعة (500) مليلتر تحتوي على (100) مليلتر من لاكتوز الشرش الخام بتركيز (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14) % ، وأضيف الى سبعة منها املاح معدنية : ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$, KH_2PO_4 , NH_4Cl) بتركيز % (0.03, 0.1, 0.2) على التوالي ، و ضبطت الدوارق عند قيم pH (3, 4, 5, 6, 7) ، ولقت الدوارق بلقاح

ففي الشرش وبوساطة *C. pseudotropicalis* كان (0.83) % وعند pH 4.57. وعند تركيز (5) % لاكتوز .

وبينت النتائج ان الانتاج يبدأ بالانخفاض عند ارتفاع تركيز اللاكتوز في الشرش عن (6) %، فقد توصل (Kourkoutas *et al.*, 2001) في دراسته الى ان اعلى انتاج للايثانول بوساطة *K.marxianus* كان (0.7) % عند تركيز (7) % لاكتوز في الشرش.

وأظهرت النتائج عدم قدرة خميرة *S. cerevisiae* على انتاج الايثانول من الشرش الخام والشرش المدعوم بالمغذيات وذلك لعدم قدرتها على استهلاك اللاكتوز الذي يمثل المصدر الكربوني الوحيد في الشرش وتحويله الى ايثانول. في حين بينت النتائج وكما موضح في الشكل (5) قدرة هذه الخميرة على النمو وانتاج كتلتها الحية في الشرش الخام وعند جميع قيم ال pH ،

تركيز الايثانول باستخدام الطريقة الكمية	تركيز الايثانول باستخدام الطريقة النوعية	العينات
0.333	0.4	2%
0.7	0.65	4%
1.339	1.3	6%
1.529	1.7	8%
1.937	1.8	10%

وذلك ربما يعود لوجود المواد المغذيه الاخرى مثل البروتينات والعناصر المعدنية وخاصة بروتين الكازين والكالسيوم وذكر (Berry *et al.*, 1987) ان وجود بروتين الكازين في وسط نمو الخمائر يجهز الخلايا بمزيج من الاحماض الامينية التي تسمح بسرعة نمو عاليه فضلا عن وجود الكالسيوم في الشرش الذي يكون له تأثير تحفيزي لنمو خميرة *Saccharomyces spp.* . وبينت النتائج ان اضافة المغذيات مثل فوسفات البوتاسيوم

المستحصل عليها بهذه الطريقة كانت مقارنة للنتائج التي حصلنا عليها باستخدام الطريقة الكمية (Pychnometer) وكما هو موضح في الجدول (A).

كما تم حساب الوزن الجاف للكتلة الحية بوزن الراسب المتكون بعد عملية الطرد المركزي، وذلك بعد تجفيفه بالفرن عند درجة (65) م⁰ مدة (24) ساعة (Borzin,2006).

أجري تحليل النتائج احصائيا بطريقة تحليل التباين (ANOVA) Analysis of variance المتبعة من قبل (Snedecore,1968).

الجدول (A) : يقارن بين تقدير تراكيز الايثانول باستخدام الطريقة الكمية وباستخدام الطريقة النوعية

Results النتائج والمناقشة & Discussion

تبين النتائج في الاشكال (4--1) قدرة عزلتي *C. kefyri* على انتاج الايثانول والكتلة الحية من جميع تراكيز اللاكتوز في الشرش، وان افضل انتاج، كان عند تركيز (6) % لاكتوز، و pH 5، اذ انتجت *C. kefyri-T* (1.6) % ايثانول و (2.5) % كتلة حية وانتجت *C. kefyri-S* (1.4) % ايثانول و (2.1) % كتلة حية، وبذلك تعد *C. kefyri-T* اعلى معنويا في انتاج الايثانول من العزله *C. kefyri-S* وهذار بما يعود لفعالية العزله *T* في انتاجها لوحدات انزيم B-galactosidase، وتوصل (Moeini *et al.*, 2004) في دراسته، الى ان سلالة *K.marxianus* (M_1) هي الافضل استهلاكاً للاكتوز من باقي السلالات التي عزلها من الشرش اعتماداً على عدد وحدات إنزيم B-galactosidase التي تنتجها في الوسط، كما توصل (Castillo *et al.*, 1982)، في دراسته الى ان افضل انتاج للايثانول

و كلوريد الامونيوم وكبريتات المغنيسيوم المائي إلى الشرش الخام أدت إلى زيادة معنوية في إنتاج الكتلة الحية لخميرة *S. cerevisiae* وعند جميع قيم ال pH، وأفضل زيادة معنوية كانت (4.8-7.6) % عند 5 pH. وتوصل (Ghaly & EL-Taweel, 1994) إلى أن إضافة المغذيات مثل فوسفات البوتاسيوم وكبريتات الامونيوم إلى الشرش تؤدي إلى زيادة نمو خميرة *Candida Pseudotropicalis* ولا تؤثر في استهلاك اللاكتوز.

يشير الشكل (6) إلى وجود زيادة معنوية في إنتاج الإيثانول من جميع تراكيز لاكتوز الشرش عند استعمال خميرة *S. cerevisiae* في مزارع مشتركة مع عزليتي *C. kefir* (S أو T) واستعمال المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae*, *C. kefir* - T, *C. kefir* - S) من استعمال المزارع المفردة لهذه الخمائر، إذ تم الحصول على (3.5) % إيثانول، من تركيز (8) % لاكتوز بوساطة المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae*, *C. kefir*-T) ، في حين تم الحصول على (3.1) % إيثانول، بوساطة المزرعة (*S. cerevisiae*, *C. kefir*-S) وتم الحصول على (3.7) % إيثانول، بوساطة المزرعة (*S. cerevisiae*, *C. kefir* - S, *S. cerevisiae* - T, Rosenberg et al., 1994)، وتوصل (Guo et al., 2008) إلى زيادة في إنتاج الإيثانول (3.8-5.2) % إيثانول من مسحوق لاكتوز الشرش عند استعماله المزرعة المشتركة بين خميرتي *K.marxianus* و *S.cerevisiae* من استعماله لخميرة *K.marxianus* المفردة. في هذه الدراسة تبين بوضوح أفضلية المزرعة المشتركة في إعطاء نسبة عالية من الإيثانول مقارنة مع المزرعة المفردة، إذ تم الحصول على زيادة كبيرة نسبياً في إنتاج الإيثانول تراوحت بين 5.1% إيثانول للمزرعة المشتركة (*C.kefyr-S+* *C.kefyr-T*) بينما أعطت العزلة (*C.kefyr-T* (1.6) % إيثانول والعزلة *C.kefyr-S* أعطت (1.4) % وكلها نمت في تركيز (6) % لاكتوز الشرش.

ويشير الشكل (7) إلى وجود زيادة معنوية في إنتاج الكتلة الحية عند استعمال المزارع المشتركة المذكورة أعلاه من استعمال المزارع المفردة لهذه الخمائر وهذا ربما يعود لتوفر المواد المغذية في الشرش من البروتينات والأيونات المعدنية، فيشجع نمو كلا الكائنين على هذه المواد، وبالتالي زيادة الكتلة الحية مقارنة بنمو كائن واحد، توصل (Carlotti et al., 1990) في دراسته إلى أن استعمال المزرعة المشتركة بين (*C.kyfer* و *C.valida*)، LY.496 أفضل إنتاجاً للكتلة الحية من الشرش الخام من استعمال المزرعة المفردة *C.kyfer-LY496*.

كما أظهرت النتائج في الشكلين المذكورين أعلاه أن المزرعة المشتركة بين عزليتي (*C.kyfer-S*, *C.kyfer-T*) هي أفضل معنوياً في إنتاج الإيثانول من المزارع المشتركة الأخرى لاسيما (*S.cerevisiae* و *C.kyfer*) وإن المزرعة المشتركة (*S.cerevisiae* و *C.kefyr-S* و *C.kefyr-T*) هي أفضل معنوياً في إنتاج الإيثانول من المزرعة المشتركة (*S.cerevisiae* و *C.kefyr*) ربما يعود هذا إلى تكيف هاتين العزلتين لبيئة الشرش التي عزلنا منها وفسر (Kumar et al., 1998) ،

و كلوريد الامونيوم وكبريتات المغنيسيوم المائي إلى الشرش الخام أدت إلى زيادة معنوية في إنتاج الكتلة الحية لخميرة *S. cerevisiae* وعند جميع قيم ال pH، وأفضل زيادة معنوية كانت (4.8-7.6) % عند 5 pH. وتوصل (Ghaly & EL-Taweel, 1994) إلى أن إضافة المغذيات مثل فوسفات البوتاسيوم وكبريتات الامونيوم إلى الشرش تؤدي إلى زيادة نمو خميرة *Candida Pseudotropicalis* ولا تؤثر في استهلاك اللاكتوز.

يشير الشكل (6) إلى وجود زيادة معنوية في إنتاج الإيثانول من جميع تراكيز لاكتوز الشرش عند استعمال خميرة *S. cerevisiae* في مزارع مشتركة مع عزليتي *C. kefir* (S أو T) واستعمال المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae*, *C. kefir* - T, *C. kefir* - S) من استعمال المزارع المفردة لهذه الخمائر، إذ تم الحصول على (3.5) % إيثانول، من تركيز (8) % لاكتوز بوساطة المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae*, *C. kefir*-T) ، في حين تم الحصول على (3.1) % إيثانول، بوساطة المزرعة (*S. cerevisiae*, *C. kefir*-S) وتم الحصول على (3.7) % إيثانول، بوساطة المزرعة (*S. cerevisiae*, *C. kefir* - S, *S. cerevisiae* - T, Rosenberg et al., 1994)، وتوصل (Guo et al., 2008) إلى زيادة في إنتاج الإيثانول (3.8-5.2) % إيثانول من مسحوق لاكتوز الشرش عند استعماله المزرعة المشتركة بين خميرتي *K.marxianus* و *S.cerevisiae* من استعماله لخميرة *K.marxianus* المفردة. في هذه الدراسة تبين بوضوح أفضلية المزرعة المشتركة في إعطاء نسبة عالية من الإيثانول مقارنة مع المزرعة المفردة، إذ تم الحصول على زيادة كبيرة نسبياً في إنتاج الإيثانول تراوحت بين 5.1% إيثانول للمزرعة المشتركة (*C.kefyr-S+* *C.kefyr-T*) بينما أعطت العزلة (*C.kefyr-T* (1.6) % إيثانول والعزلة *C.kefyr-S* أعطت (1.4) % وكلها نمت في تركيز (6) % لاكتوز الشرش.

ويشير الشكل (7) إلى وجود زيادة معنوية في إنتاج الكتلة الحية عند استعمال المزارع المشتركة المذكورة أعلاه من استعمال المزارع المفردة لهذه الخمائر وهذا ربما يعود لتوفر المواد المغذية في الشرش من البروتينات والأيونات المعدنية، فيشجع نمو كلا الكائنين على هذه المواد، وبالتالي زيادة الكتلة الحية مقارنة بنمو كائن واحد، توصل (Carlotti et al., 1990) في دراسته إلى أن استعمال المزرعة المشتركة بين (*C.kyfer* و *C.valida*)، LY.496 أفضل إنتاجاً للكتلة الحية من الشرش الخام من استعمال المزرعة المفردة *C.kyfer-LY496*.

كما أظهرت النتائج في الشكلين المذكورين أعلاه أن المزرعة المشتركة بين عزليتي (*C.kyfer-S*, *C.kyfer-T*) هي أفضل معنوياً في إنتاج الإيثانول من المزارع المشتركة الأخرى لاسيما (*S.cerevisiae* و *C.kyfer*) وإن المزرعة المشتركة (*S.cerevisiae* و *C.kefyr-S* و *C.kefyr-T*) هي أفضل معنوياً في إنتاج الإيثانول من المزرعة المشتركة (*S.cerevisiae* و *C.kefyr*) ربما يعود هذا إلى تكيف هاتين العزلتين لبيئة الشرش التي عزلنا منها وفسر (Kumar et al., 1998) ،

مختلفة . إذ لوحظ إن الإنتاج يزداد تدريجياً وصولاً إلى أعلى إنتاج للإيثانول (11.4) % عند سرعة الرج (150) دورة / الدقيقة ثم يبدأ الإنتاج بالانخفاض عند سرعة الرج (200) دورة / دقيقة في حين تستمر الزيادة في إنتاج الكتلة الحية، وصولاً إلى (12.7) % كتلة حية عند سرعة الرج (200) دورة / دقيقة وهذا ربما يفسر على أساس ما ذكره (Peppler&Perlman, 1979) ، بالرغم من إن إنتاج الإيثانول يكون تحت ظروف لا هوائية إلا أنه توجد هناك حاجة إلى كميات قليلة جداً ومستمرة من الأوكسجين لدعم الخلايا المنتجة للكحول وتوصل (Panesar, 2007) في دراسته إن زيادة في تحلل اللاكتوز في الشرش قد لوحظت عند سرعة الرج فوق 100 دورة / الدقيقة ولاحظ أن سرعة الرج العالية لا تحسن من تحلل اللاكتوز. وبين (Kongkiattikajorn et al. 2007) في دراسته، وجود زياده في إنتاج الإيثانول والكتلة الحية من مزيج سكري (الكلوكوز والزايكوز) بوساطة المزرعة المشتركة بين خميرتي (*S. cerevisiae*, *C. tropicalis*) عند استعمال الرج وإن أعلى إنتاج للإيثانول ، كان عند سرعة رج (50) دوره/دقيقه، في حين أعلى إنتاج للكتلة الحية كان عند سرعة رج (200) دورة/دقيقة.

وتوصل (Ghaly & El-Tawed, 1995) في دراسته إلى إن زيادة سرعة التهوية تؤدي إلى زيادة في تركيز الكتلة الحية ونقصان في إنتاج الإيثانول، كما ذكر (Paca&Gregr, 1978) أن زيادة الرج يزيد من الكتلة الحية بتقليله تأثير التراكيز العالية للإيثانول في نمو الخلايا.

الزيادة في إنتاج الإيثانول في الشرش، هو إن خلايا الخميرة تستخدم الأيونات المعدنية الموجودة بصورة طبيعية في الشرش كمواد مغذية مواد مساعدة تزيد من سرعة التفاعل ، خلال نمو الخلايا ولاحظ إن الأحياء المجهرية تختلف في الفة ارتباطها بهذه الأيونات المعدنية التي تخترق جدار الخلية وتزيد من سرعة التفاعل .

وبينت النتائج إن المزرعة المشتركة (*S. cerevisiae* - *S. kefyra* و *C. kefyra* - *T*) هي أكثر معنوية في إنتاج الكتلة الحية من مزرعة (*S. kefyra* - *T* و *C. kefyra*) ، والتي أقل إنتاجاً للكتلة الحية من المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae* و *C. kefyra*) وهذا ربما يعود إلى نمو *S. cerevisiae*، إذ إن وجود بروتين الحليب (الكازين) والذي يعد المصدر النيتروجيني المهم في الشرش يدعم نمو هذه الخميرة، وتوصل (Batistote et al., 2006) إلى إن إضافة المصادر النيتروجينية المعقدة التركيب مثل (الكازين) إلى وسط تخمر المالتوز يحفز نمو *S. cerevisiae* ولكن لا يمكنها من تخمير المالتوز بكفاءه ، وهذا ممكن إن يفسر نتائج هذه الدراسة في إن المزرعة المشتركة الثلاثية (*S. cerevisiae* - *S. kefyra* - *T*) هي أقل معنوية في إنتاج الإيثانول من المزرعة المشتركة (*C. kefyra* - *T* و *C. kefyra* - *S*).

تأثير الرج في إنتاج الإيثانول من لاكتوز الشرش بوساطة مزيج الخمائر

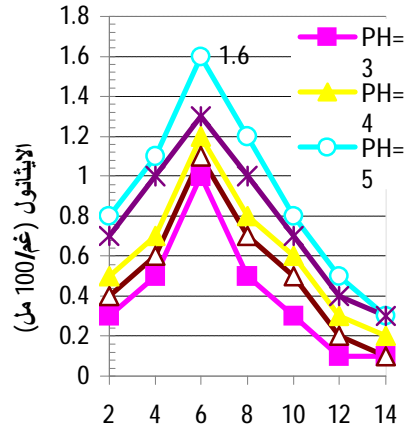
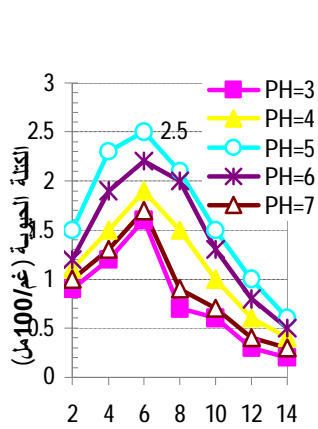
يوضح الشكل (8) وجود زيادة معنوية في إنتاج الإيثانول والكتلة الحية من تركيز (6) % لاكتوز في الشرش بوساطة المزرعة المشتركة (*C. kefyra* - *S*, *C. kefyra* - *T*) عند استعمال الرج وبسرعة

References

- Metabolism during Continuous Propagation of *Klyveromyces fragilis* in Cheese whey, Agricultural Engineering International. The CIGR Journal of Scientific Research and Development.
- [9] Ghaly, A.E. & EL-Taweel, A.A. (1995). Effect of micro aeration on the ethanol during batch fermentation of cheese whey. J. Biosresource technology.; 52,3: 203-217.
- [10] Ghaly, A.E. and EL. Taweel, A.A. (1994). Effect of Nutrient Supplements Addition on Ethanol production from cheese whey using *Candida pseudotropicalis* under batch condition. J.Appl. Biochem and Biotech. ; 53.
- [11] Guimaraes, P.; Klein, J.; Domingues, L. and Teixeira, A. j. (2005). Fermentation performance of a Recombinant Lactose consuming flocculating *Saccharomyces cerevisiae* strain. Brazilian Journal of food technology. ; 55.
- [12] Guo, X.; Zhou, J. and Xiao, D. (2008). Improved Ethanol production by mixed Immobilized cells of *Klyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisiae* from cheese whey powder solution fermentation. J. Appl. Biochem Biotechnol. ; 5, 2:33-36.
- [13] Kongkiahikajorn, J. ;Rodmui, A. and Dandusitapun, Y. (2007). Effect of Agitation Rate Culture on Batch Fermentation from Mixed Culture of Yeasts during Ethanol Production from Mixed Glucose and Xylose. Thai J. Biotechnol.; 8, 1: 1 – 4.
- [14] Kourkoutas, Y. ; Dimitropoulou, S. ; Marchant ,R. and Banat, I. [1] Atkinson, B. and Mavituna, F. (1985). Biochemical and Biotechnology Handbook, Stockton Press, New York.
- [2] Batistote, M.; Da cruz, S.H. and Ernandes, J.R. (2006). altered patterns of glucose and maltose fermentation by brewing and wine yeasts influenced by the complexity of nitrogen source. J. Inst. Brew.; 112:84-91
- [3] Berry, D. R.; Russeu, I. and Stewart, G. G. (1987). Yeast Biotechnology. Great Britain by St. Edmondsburg Press, Suffolfe: pp 165.
- [4] Carlotti, A.; Jacob, F.; Pavvier, J. and Poncet, S. (1990). Yeast Production from Crude Sweet Whey by Mixed Culture of *Candida Kefyr Ly496* and *Candida Valida Ly 497*. J. Biotech Lett. ; 13: 437 – 440.
- [5] Castillo, F.J.; Izaguirre, M.E.; Michlena, V. and Moreno, B. (1982). Optimiziton of Fermentation Condition for Ethanol Production from whey .J. Biotechnology. ; 4, 9: 567-572.
- [6] Gawel, J. and Kosikowski, F.V. (1978). Improving Alcohol fermentation in concentrated ultrafiltration permeates of cotlage cheese whey. J. food science. ; 43, 6: 1717-1719.
- [7] Gerba, S.; Stehlite ; Tomas, V.; Stanzer, D.; Vahcic, N. and Skrlin, A. (2002). Selection of Yeast Strain *Klyveromyces marxianus* for Alcohol and Biomass Production from Whey. J. Chem. Biochem. Eng.; 161: 13 – 16.
- [8] Ghaly, A. E. and Mahmoud, N. S. (2003). Heat Generated by Mechanical Agitation and Lactose

- [23] Panesar, P.S. (2007). Lactose hydrolysis in whole milk using immobilized *Kluyveromyces marxianus* cells. J. Amer. food. Tech.; 2,4:288-294.
- [24] Pedro, M. R.; Teixeira, A.j. and Domingues, L. (2008). Fermentation of high concentration of Lactose to ethanol by engineered flocculant *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biotech. lett. ; 30: 1953-1958.
- [25] Peppler, H.J. and Perlman, D. (1979). Microbiol. Technology. Academic press, Inc.; 2nd :27-29.
- [26] Perry's, R.H. and Chitton, C.H. (1991). Chemical engineering handbook. MC., Gram Hill, 6th edition.
- [27] Pesta, G. ; Meyer, R. and Russ, W. (2007). Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry . springer: 193-197.
- [28] Rosenberg, M.; Tomska, M.; Kanuch, J. and Surdik; E. (1995). Improved ethanol production from whey with *Saccharomyces cerevisia* using permeabilized cells of *Kluyveromyces marxianus* T. Inter science. ; 15, 387-390
- [29] Siso, m. (1996). The biotechnological of utilization of cheese whey. Rev. Biore. technol.; 75: 1-11.
- [30] Snedecore, G.W. and Cochran, W.G. (1968). Statical methods Iowa state university. Press, Iowa.
- [31] Szczodrok J.; szewczuk, D.; Rogals, K. J. and Fiedurek, J. (1997). Selection of yeast strain and fermentation M. (2001). Whey liquid waste of dairy industry as raw material for fermentation with the thermophilic *Kluyveromyces marxianus* IMB3. J. Environ. Sci. Tech.; 7:226-233.
- [15] Kumar, J.V.; Shahbazi, A. and Mathew, R. (1998). Biconversion of solid food wastes to ethanol. J. Analyst.; 123: 497-502.
- [16] Longhi, LG.; Luvizetto, DJ. ; Ferreira, Ls. Rech.; Ayub, MAZ. And Secchi, AR. (2004). Agrowth Kinetic Model of *Kluyveromyces Marxianus* cultures on cheese Whey as Substrate. J. Ind. Microbiol Biotechnol.; 3: 35-40.
- [17] Loyns, E.J. (1967). Suspension of Solids: In Mixing Theory and Practice. Uhl, V. W. and J. B. Gray (Eds) Academic Press, New York.
- [18] Moeini, H. ; Nahvi, I. and Tavassoli, M. (2004). Identification of Yeast Strains with High Beta – Galactosidase Activity from Dairy Products. J. Biotechnol.; 3: 35 – 40.
- [19] Moore, K. E. (1983). Manual of general Microbiology, Kuwait University.
- [20] Ozmihici, S. and Kargi, F. (2006). Ethanol fermentation of cheese whey powder Solution by repeated fed batch operation. J. Enz. Microbial. technol. ; 41: 169-174.
- [21] Ozmihic, S. and Kargi, F. (2007). Effect of feed sugar concentration on continuous ethanol fermentation of cheese whey powder Solution (CWP). J. Eng. microbial technol. ; 41: 876-880.
- [22] Paca, J. and Gregr, V. (1978). Effect of interstage mixing in multistage culture system on continous biomass production . J. Biotech. Bioeng.; 21: -1809-1825.

- [33]Varela, H.; Ferrari, M. D.; Loperena and Lareo, C. (1992). Effect of Airation rate on the Alcoholic Fermentation of Whey by *Klyveromyces fragilis* . pub med.; 8 1: 14 – 20.
- [34]Zafar, S. and Owais, M. (2005). Ethanol production from condition for whey. J. Acta biotech. ; 17, 1:51-61.
- [32]Tayu, M.; Honda, H. and Kobayashi, T. (1984). Lactose utilizing Hybrid strain derived from *Saccharomycis cerevisia* and *Klyveromyces Lactis* by protoplast fusion. Agric. J. Biochem.; 46, 9: 2239-2243.
- [35]crude whey by *Klyveromyces marxianus* .j. Biochem. Eng. ; 27: 295-298.

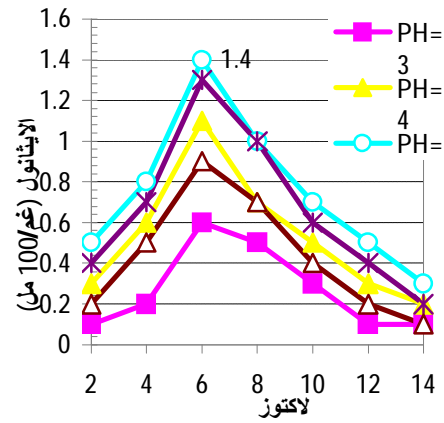
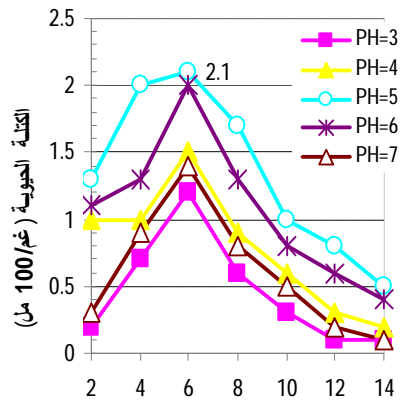


شكل(2):تأثير تركيز اللاكتوز % والـ pH في وزن الكتلة

شكل(1):تأثير تركيز اللاكتوز % والـ pH في إنتاج الايثانول(غم/100)

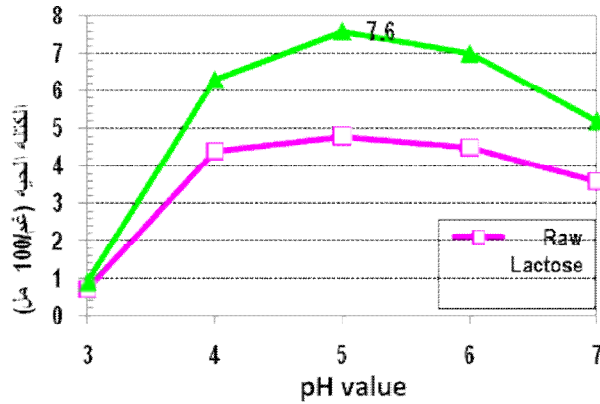
الحيوية(غم/100) لنمو *C.kyfer-T* في الشرش عند 35°م مدة يومين

في الشرش بواسطة نمو *C.kyfer-T* عند 35°م مدة يومين

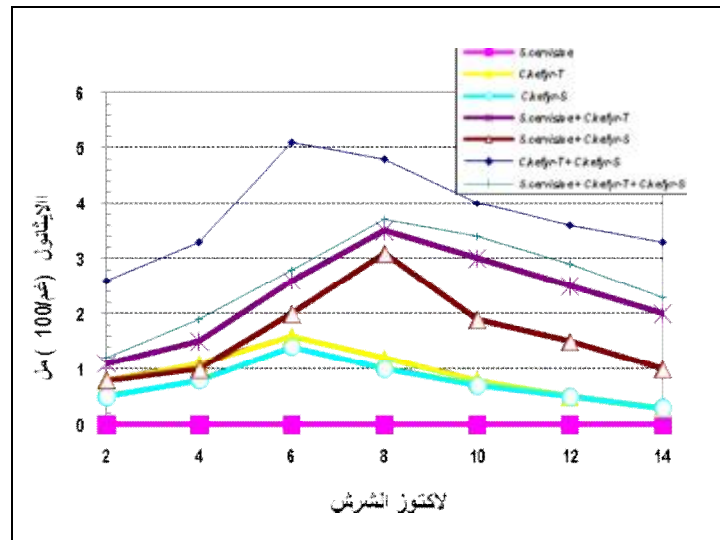


شكل(4):تأثير تركيز اللاكتوز % والـ pH في وزن الكتلة
الحيوية(غم/100) لنمو *C.kyfer-S* في الشرش عند 35°م مدة يومين

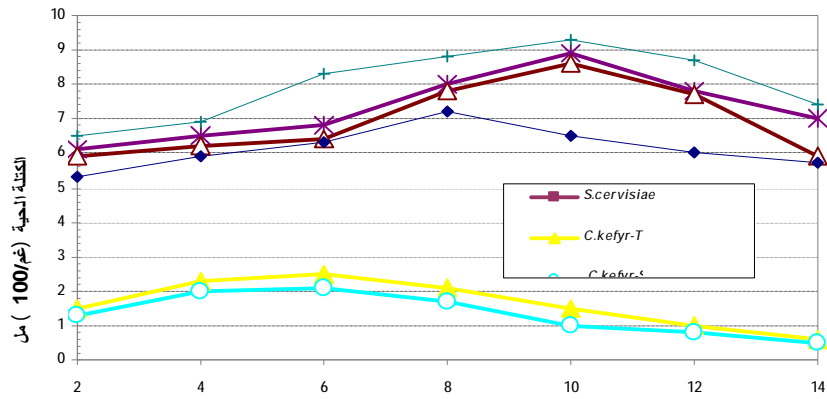
شكل(3):تأثير تركيز اللاكتوز % والـ pH في إنتاج الايثانول(غم/100)
في الشرش بواسطة نمو *C.kyfer-S* عند 35°م مدة يومين



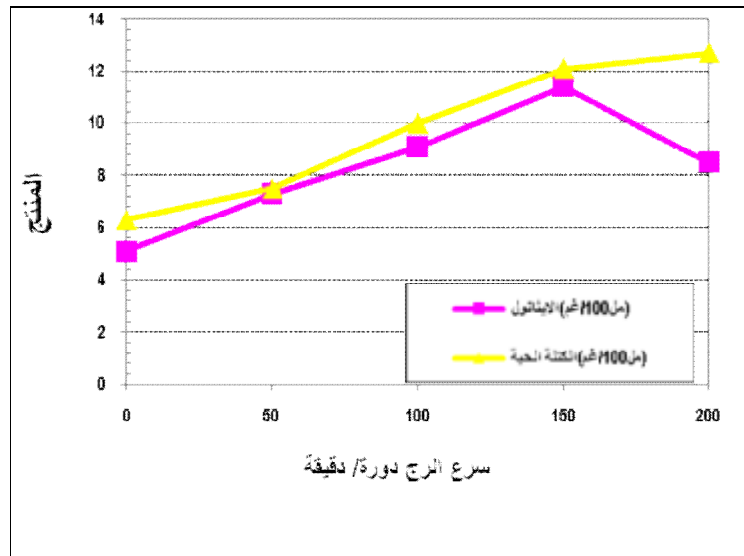
شكل (5): تأثير المغذيات والـ pH في وزن الكتلة الحيوية (غم/100) لنمو *S.cerevisiae* في 4% لاكتوز الشرش عند 35°م مدة يومين



شكل (6): تأثير تركيز لاكتوز الشرش % والـ pH في إنتاج الإيثانول (غم/100) من الخمائر المفردة والمشاركة عند 5 pH و 35°م مدة يومين



شكل (7): تأثير تركيز لاكتوز الشرش % في إنتاج الكتلة الحية لنمو الخمائر المفردة والمشاركة عند pH5 و35م° مدة يومين



شكل (8): تأثير سرعة الرج في إنتاج الايثانول من الشرش (6% لاكتوز) بواسطة المزرعة المختلطة (C.kefyr-T+C.kefyr-S) عند pH5 و35م° مدة يومين