

انتاج الايثانول من مزيج من السكريات بوساطة مزيج من الخمائر

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

تاريخ التقديم: 2009/ 10/ 22

تاريخ القبول: 2010/ 4/1

الخلاصة

هدفت الدراسة الى تحسين انتاج الايثانول من تخمر مزيج من السكريات باعتماد مزارع مشتركة من خمائر تم عزلها من الشرش ، ومزارع مشتركة بين هذه الخمائر وخميرة الخبز *S. cerevisiae* وتحت امثل الظروف من الـ pH وتركيز مزيج السكريات . تمت دراسة تأثير تركيز السكرو السدالة الحامضية في عمل كل خميرة من خلال إجراء تجارب لانتاج الايثانول والكتلة الحية من تراكيز مختلفة للسكريات المفردة (الكلوكوز و الكالاكتوز) باستعمال الخمائر المفردة (المعزولة من الشرش وخميرة *S. cerevisiae*) وعند قيم مختلفة للـ pH ، ودرجة الحرارة عند 35 م° مدة يومين. تم الحصول على عزلتين من الخميرة هما *C.kefyr-S* و *C.kefyr-T* من وسط الشرش الخام. درست ميكانيكية عمل الخمائر انفراديا في الاوساط الصناعية من خلال تجربة هذه الخمائر لانتاج الايثانول والكتلة الحية من تراكيز مختلفة لمزيج (الكلوكوز و الكالاكتوز) وبنسب مساوية لتلك المكونة لسكر اللاكتوز، ومن تراكيز مختلفة لسكر اللاكتوز الجاهز وعند الـ pH المثالي (5) و35م° مدة يومين. تم دراسة ميكانيكية عمل الخمائر في المزارع المشتركة من خلال تجارب لانتاج الايثانول والكتلة الحية من تراكيز مختلفة للمزيج المذكور ، واللاكتوز الصناعي باستعمال مزيج من خميرة *S. cerevisiae* وكل خميرة من الخمائر المعزولة ، ومزيج الخمائر المعزولة معا تحت الظروف نفسها. ان خميرة *S. cerevisiae* هي افضل معنويا في انتاج الايثانول والكتلة الحية في جميع تراكيز الكلوكوز مقارنة بعزلتي *C.kefyr-S* , *C.kefyr-T* وبالمقابل ان هاتين العزلتين هما افضل معنويا في انتاج الايثانول والكتلة الحية في جميع تراكيز الكالاكتوز مقارنة بخميرة *S. cerevisiae* وان العزلة *C.kefyr-T* هي الافضل انتاجا من العزلة *C.kefyr-S*. وقد وجدت زيادة معنوية ملحوظة في انتاج الايثانول ونقصان معنوي في انتاج الكتلة الحية من جميع تراكيز المزيج ووجود زيادة معنوية في انتاج الايثانول والكتلة الحية من جميع تراكيز اللاكتوز الجاهز عند استعمال المزرعة المشتركة بين عزلتي *C.kefyr* والمزارع المشتركة بين *S. cerevisiae* وكل عزلة من عزلتي *C.kefyr* إذ تم الحصول على (8.7%) ايثانول من تركيز (10) % مزيج بوساطة المزرعة (*C.kefyr-T*, *S. cerevisiae*) ، وتم الحصول على افضل انتاج (4.6%) ايثانول من تركيز (8%) لاکتوز صناعي بوساطة المزرعة المشتركة (*C.kefyr-S*, *C.kefyr-T*) وجود نقصان معنوي في انتاج الايثانول والكتلة الحية من جميع تراكيز المزيج عند استعمال المزرعة المشتركة (*C.kefyr-T*, *C.kefyr-S*) و (*S. cerevisiae*, *C.kefyr-S*) من استعمال المزرعة المشتركة (*S. cerevisiae* و *C.kefyr-S*) والمزرعة المشتركة لعزلتي *C.kefyr* .

الكلمات المرشدة : ايثانول , مزيج سكريات , مزيج خمائر

Ethanol Production From Mixed Sugars By Mixed Yeasts

Abstract

The study is aimed to improve ethanol production from mixed sugar dependency on mixed culture of isolated lactose -fermenting yeasts and baker's

yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) under optimum condition of (sugars concentration,pH. The study was included:
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 of Individual sugars which constituents of Lactose sugar (Glucose and Galactose) by using Individual yeast(isolated from whey and *S.cerevisiae*) under different pH values and 35°C for two days.
Studying the working mechanisms of Individual yeast in synthetic media through making experiments by using this yeast for ethanol and biomass production from different concentrations of mixture sugars of (glucose and galactose) in equal ratio to that constituent of lactose sugar and from different concentration of synthetic Lactose under optimum determined pH5,35C for two days.
Studying the working mechanisms of yeasts in mix-culture through making experiments by using these yeasts for ethanol and biomass production from different mixture sugar concentrations, and synthetic Lactose by using mixture of *S.cerevisiae* and each of isolated yeasts, mixture of *S.cerevisiae* and all isolated yeasts, under same conditions. Obtained two Isolated yeast strains *C.kyfer-T*, and *C.kyfer-S* from crude whey. The optimum pH was pH5, *S.cerevisiae* significantly the best Ethanol and Biomass production from glucose, comparing with *C.kyfer -T* and *C.kyfer-S*, which were the best in ethanol and biomass production from galactose, and *C.kyfer-T* was the best producer than *C.kyfer-S*.
There are significantly increasing in ethanol production and significantly decreasing in biomass production from mixture , and significantly increasing in ethanol and biomass production from synthetic lactose , when using mix-culture of two *C.kyfer(T-S)* , co-culture of *S.cerevisiae* and each isolated yeast (*C.kyfer*),, mix-culture of (*S.cerevisiae*, *C.kyfer-T*) produce(8.7)% ethanol from (10)% mixture, mix-culture of (*C.kyfer-S*, *C.kyfer-T*) produced (4.6)% ethanol from(8)% synthetic lactose.
There is significantly decreasing in ethanol and biomass production from mixture when using mix-culture of (*S.cerevisiae* + *C.kyfer-T* + *C.kyfer-S*) than using mix-culture of (*S.cerevisiae* + *C.kyfer*) and mix-culture of (*C.kyfer-T* + *C.kyfer-S*).

المقدمة

بدل للوقود الحاجة الى إنتاج الإيثانول , إذ يقدر الاستهلاك العالمي للإيثانول كوقود لمحركات السيارات بحوالي (30) مليون طن سنوياً (Granda et al.,2007). وينتج أكثر من نصف الإيثانول الصناعي عن طريق تخمر اي مادة عضوية غنية بالكربوهيدرات وغالباً تستعمل الخمائر في هذه التخمرات لقدرتها على تخمير عدد واسع من السكريات فضلاً عن الكلوكوز (Kumar et al.,1998) . حول الخمائر ووكسيد الكربون وكتلة حية وتدعى هذه

بعد الإيثانول واحداً من اهم الكيمائيات العضوية، فهو يمتلك تطبيقات واسعة في الصناعات (الغذائية ،و الصيدلانية ،و الكيمائية)، إذ يستعمل كمذيب للمواد الداخلة في صناعة (العطور ، والادوية ، والمكياج)، أو كمادة اساس في صناعة بعض المركبات العضوية الاخرى مثل حامض الخليك (Morris& Hill ,2006) . ازدادت في السنوات الخمس الاخيرة نسبة انتاج الإيثانول بحوالي (11%) , نتج عن الاستنفاد السريع للإحتياطي العالمي للبتروول و ظهور الإيثانول كأهم مصدر

العملية ، بينما في الظروف اللاهوائية تحولها الى ايثانول وثاني اوكسيد الكربون وكليسرول (Berry et al.,1987). وتكمن الالهمية الصناعية للخمائر في قدرتها على تخمير عدد واسع من السكريات لأنتاج المشروبات الكحولية والايثانول ، وبروتين احادي الخلية (كمصدر غذائي للإنسان والحيوان) ، و الانزيمات ، و الدهون والفيتامينات (Fields,1982) . تعد الخمائر التي تمتلك القدرة على تخمير اللاكتوز مباشرة الى ايثانول محدودة (Moulin & Galzy,1984) . وذكر (Lodder, 1970) عدداً محدداً من الخمائر التي تخمر اللاكتوز ومنها: *Kluyveromyces lactis* ، *Kluyveromyces fragilis* ، *Kluyveromyces marxianus*، *Candida kefyr* ، *Candida pseudotropicalis* . وركزت اغلب الدراسات على استعمال الانواع *K. fragilis*، *K. marxianus* ، *Candida pseudotropicalis* ، ولاحظ قلعة الدراسات المهمة بنوع *C.kefyr* . ويعود نوع *C.kefyr* الى جنس الـ *Candida* والذي يعود الى عائلة *Cryptococcaceae* ، والتي تعود الى صنف الفطريات غير الحقيقية ، والتي لا تتكاثر جنسياً. وتتواجد *C.kefyr* بشكل طبيعي في حليب البقر ، والماعز ، ويعود أصل *kefyr* الى كلمة تركية تعني مسكرة او مخمرة (Wyder,2001) . وذكر (Gadaga et al.,2007) في دراسة ان خميرة *C.kefyr* المخمرة للاكتوز تعطى نكهة كحولية للحليب من خلال تخميرها للاكتوز وإنتاج الإيثانول وغاز ثاني اوكسيد الكربون . درست وبشكل واسع عملية إنتاج الإيثانول من مواد خام مختلفة و تعد المواد الخام الحاوية على السليلوز مثل (القش، الخشب، الفضلات الورقية)، والمواد الحاوية على النشا مثل (الذرة و الحنطة و الشعير وقصب السكر و بنجر السكر والمولاس) من اوسع المواد الخام

استعمالاً لإنتاج الإيثانول (Agu et al., 1997; Singh et al., 1998; Hari et al., 2001) ، إذ تمتلك المنتجات الزراعية محتوى واسعاً من الكربوهيدرات المتمثلة بالسكريات و النشويات، والسليولوز والتي تستغل كمواد خام لإنتاج الإيثانول (Zeyed & Meyer, 1996). ويزداد إنتاج الإيثانول عند توفر سكريات إضافية قابلة للتخمر في الوسط، لذلك من الضروري اعتماد زيادة من السكريات في الوسط لإنتاج الإيثانول بكميات كبيرة (Cote et al., 2004; Ali et al., 2006). استعمل Sanchez وجماعته عام (2002) مزيج سكري (الكلوكوز و الزايلوز) لإنتاج الإيثانول وحصلوا على أفضل سرعة إستهلاك للسكر عند استعمال خميرة *C. shehatae* ، إذ تعتمد كفاءة التخمر على سرعة استهلاك السكريات من قبل الخلية (Araujo et al., 2007) . وأستخدم عصير نبات (*Helianthus Tuberosus*) عالي المحتوى السكري والمتمثل بسلسلة متعددة الفركتوز ترتبط عند الموقع *B(1-2)* بجزيئة كلوكوز لإنتاج الإيثانول بوساطة خميرة *Saccharomyces cerevisiae* (Thuesombat et al., 2007). إن الحاجة الى أحياء مجهرية قادره على تخمير مزيج السكريات الناتج من تحلل الكربوهيدرات المعقدة هو الأكثر أهمية من إنتاج الإيثانول من هذه السكريات ويجب أن يُظهر الكائن المعتمد صفات مهمة تشمل: إمتلاك قدرة تحمل للتراكيز العالية للإيثانول وقدرة على إستهلاك مدى واسع من المواد الأساس ومقاومة للتلوث (Van maris et al., 2006) . وإهتم الباحثون بتجربة المزارع المشتركة لزيادة إنتاج الإيثانول من هذه السكريات ، إذ اقترح نظام المزارع المشتركة الذي في نفس الوقت يُحلل ويحول المواد الأساس ويكون أكثر مقاومة للتلوث وتحسينا لإنتاج (Carlotti et al., 1990) . درس (Dhawale and Ingledew)

(كلوكوز و كالاكتوز و مانوز و زاييلوز)
عند أستعمالهم المزرعة المشتركة لخميرتي
Kluyveromyces Marxianus ,
pichia stipitis
المواد وطرائق العمل

أعدمت خميرة الخبز *Saccharomyces cerevisiae* الجاهزة ذات المنشأ التجاري التركي (YUVA) وعزلتان من الخمائر المخمرة للأكتوز تم عزلهما من أنموذج الشرش وفقا لما ذكره (Ozmihici & Kargi, 2006) 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 توماس كما استعملها (Moor, 1983).

استعمل (105) دورقا زجاجيا سعة كل منها (500) مليلتر تحتوي على تراكيز مختلفة (2,4,6,8,10,12,14)% من سكر الكلوكوز، بإذابة اوزان مختلفة لهذا السكر في (100) مل من وسط صناعي محضر في لتر من الماء المقطر وفقا لما ذكره (Ozmihici & Kargi, 2006). ضبطت الدوارق اعلاه عند قيم مختلفة من الـ pH (3,4,5,6,7) تم تعقيمها في درجة حرارة 121م⁰ وضغط 15 باوند/نجم². ثم تلقح كل (35) دورقا من هذه التراكيز المختلفة بـ (5) مل من نوع واحد من لقاح الخمائر (*S. cerevisiae*) او العزلة *T- Candida kefir* او العزلة *S- Candida kefir* ثم وضع الدوارق في الحاضنة عند درجة (30) م⁰ مدة (48) ساعة. أعيدت نفس لتجارب باستعمال سكر الكالاكتوز Galactose بدلا من الكلوكوز. كما حضر (21) دورقا زجاجيا تحتوي على تراكيز مختلفة (2,4,6,8,10,12) من مزيج متساوي النسب من سكري (الكلوكوز و الكالاكتوز)

1983 المزرعة المشتركة لخميرتي (*S. cerevisiae* و *castelli*) لإنتاج الإيثانول من المولاس ولاحظنا زيادة في الإنتاج عند استعمال المزرعة المفردة لخميرة *S. cerevisiae*، ولاحظ (Kamini & Gunasekaran, 1987) زيادة في إنتاج الإيثانول من سكر اللاكتوز عند استعمالهما المزرعة المشتركة لخميرة (*Kluyveromyces fragilis*) وبيكتريا (*Zymomonas mobilis*) من استعمالهما المزرعة المفردة لكلا الكائنين، وتوصل (Planitkav & Lachke, 1990) الى زيادة في نسبة انتاج الايثانول (% 10-13) من مزيج سكريات (كلوكوز و زاييلوز و سيليبايوز) عند استعمالهما المزارع المشتركة لخميرتي (*Candida Shehatae* و *S. cerevisiae*) من استعمالهما المزارع المفردة للخميرتين، واستعملت المزرعة المشتركة لخميرتي (*S. cerevisiae*, *S. diastaticus*) لزيادة انتاج الايثانول من النشا غير المتحلل في خطوة واحدة من قبل (Verma *et al.*, 1991) وحصلوا على زيادة في نسبة منتج الايثانول (48%) من استعمالهم المزارع المفردة لكلا الخميرتين، وحصل (Pirselova *et al.*, 1993) على اعلى تركيز للايثانول (17.3) غم/لتر والتي شكلت (88%) من المنتج النظري عند استعمالهم المزرعة المشتركة لخميرتي *Saccharomyces cerevisiae* و *Saccharomycopsis fibuligera*، لانتاج الايثانول من النشا.. ولاحظ Szambelan وجماعته في عام (2004) زيادة في نسبة إنتاج الايثانول (% 2-12) عند استعمالهم المزرعة المشتركة لخميرتي (*S. cerevisiae* و *K. fragilis*) لانتاج لايثانول من عصير نبات *Helianthus tuberosus* وتوصل Rouhollah وجماعته عام (2007) الى أعلى إنتاجية للايثانول (31.87) غم/لتر من مزيج سكريات

النتائج والمناقشة

أظهرت النتائج في الاشكال (A-1) الى (F-2) وجود علاقة بين متغيري تركيز السكر والـ pH في إنتاج الـ ايثانول والكتلة الحية. من السكريات المفردة (كلوكوز، كالاكتور) وبوساطة الخمائر المفردة (*S. cerevisiae*، و *C. kefyri* و *C. kefyri-S*)، إذ لوحظ ان نسبة إنتاج الـ ايثانول والكتلة الحية تتزايد تدريجياً مع ازدياد تركيز السكر في الوسط. بثبوت الـ pH . و أفضل إنتاج كان عند pH 5 . وهذا يتوافق مع ما توصل اليه (et al., 2004) Neelakantam في دراسته العلاقة بين متغير تركيز السكر والـ pH في إنتاج الـ ايثانول من سكريات (maltodextrine) بوساطة *S. cerevisiae*، ولاحظ ان أفضل إنتاج كان عند pH 5 و pH 5.5، لكن النتائج بينت عدم وجود فرق معنوي كبير في إنتاج الـ ايثانول والكتلة الحية عند مدى pH (4-6) بثبوت تركيز السكر وان أفضل إنتاج كان عند معدلها pH 5 وهذا المدى يشابه ما توصل اليه (Thuesombat et al., 2007) في دراسته إذ ذكر انه لا يوجد فرق معنوي في إنتاج الـ ايثانول من سكريات مستخلص نبات *Helianthus tuberosus*، بوساطة *S. cerevisiae* . عند مدى pH (4.5-6.0) بثبوت تركيز السكر وكان افضل إنتاج للـ ايثانول عند pH 5. وبينت النتائج وجود نقصان معنوي في الإنتاج عند الارتفاع أو الانخفاض عن مدى pH (4-6) في جميع التراكيز، وقد فسّر (ward, 1989) ذلك في ان مدى الـ pH (4-6) يكون مناسباً للنمو والفعالية التخمرية. بينما يحصل تلوّك في الفعالية التخمرية عند مدى pH (3-4)، وذكر ان القيم العليا للـ pH تزيد من إنتاج الكليسرول بدلاً من الـ ايثانول . كما يتضح في جميع الاشكال المذكورة اعلاه ان نسبة إنتاج الـ ايثانول والكتلة الحية تتزايد تدريجياً مع ازدياد تركيز السكر في الوسط. حتى

و ضبط تركيز ايون الهيدروجين لجميع التراكيز عند القيمة المثلى (5.0) وتم تلقح كل سبعة تراكيز مختلفة بنوع من لقاح خميرة مفردة وحضنت الدوارق كما في أعلاه . تم تحضير (28) دورقاً زجاجياً يحتوي على التراكيز اعلاه من مزيج السكريات وضبط تركيز ايون الهيدروجين كما في اعلاه ، ولقح كل تركيز باحدى المزارع المشتركة : (*S. cerevisiae* + *Candida kefyri - T* او *S. cerevisiae + C. kefyri S*) او (*C. kefyri - T + S. cerevisiae*) او (*C. kefyri - T + C. kefyri S*) او (*C. kefyri - T + C. kefyri S + S. cerevisiae*) تم وضع الدوارق في الحاضنة. لحساب تركيز الايثانول، طبقت طريقة الجمعية الأمريكية للتحليل الكيميائي المعتمدة على خاصية الكثافة وبأستخدام قنينة الكثافة (Pycnometer) (Perry & Chitton, 1991) 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 نوعياً لخمسة عينات في وزارة العلوم والتكنولوجيا وبأستخدام جهاز الكروماتوغراف الغازي، ووجد أن النتائج المستحصل عليها بهذه الطريقة كانت مقارنة للنتائج التي حصلنا عليها بأستخدام الطريقة الكمية (Pycnometer) وكما هو موضح في الجدول (A). كما تم حساب الوزن الجاف للكتلة الحية بوزن الراسب المتكون بعد عملية الطرد المركزي، وذلك بعد تجفيفه بالفرن الكهربائي عند درجة (65) م° مدة (24) ساعة (Borzani, 2006). أجري تحليل النتائج احصائياً بطريقة تحليل التباين (ANOVA) Analysis of variance على وفق (Snedecore, 1968).

عزلتي *C. kefyri* (S و T)، اذ تستطيع تحمل حتى تركيز (6) % كالاكتوز ولكن يلاحظ انها اقل معنوية في انتاج الايثانول والكتلة الحية من عزلتي *C. kefyri* (S و T) اذ انتجت (0.8) % ايثانول، (1.3) % كتلة حية من تركيز (6) % كالاكتوز في حين انتجت العزلة *C. kefyri*-T، (1.4) % ايثانول، (1.5) % كتلة حية من تركيز (4) % وانتجت العزلة *C. kefyri*-S (1.0) % ايثانول، (1.2) % كتلة حية من نفس التركيز وعند pH 5، وذلك يعود الى ان سرعة امتصاص الكالاكتوز بوساطة الانتشار السريع في خميرة *S. cerevisiae* اكبر من سرعة ايضه وهذا يتفق مع ماذكره (Shou et al., 1970). وذكر (Rouhollah et al., 2007) في دراسته، ان *S. cerevisiae* قد انتجت (0.6) % ايثانول و (0.2) % كتلة حية من تركيز (2) % كالاكتوز في حين انتجت *K. marxianus* (0.8) % ايثانول و (0.4) % كتلة حية من نفس التركيز خلال (48) ساعة. وبينت النتائج وكما موضح في الاشكال (A-3) الى (D-3) 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 معنوية في انتاج الايثانول من العزلة *C. kefyri*-S وهذا ربما يعود لفعالية العزلة T في انتاجها لوحدات انزيم B-galactosidase، وتوصل (Moeini et al., 2004) في دراسته، الى ان سلالة *K. marxianus* (M₁) هي الافضل استهلاكاً للاكتوز من باقي السلالات التي عزلها من الشرش اعتماداً على عدد وحدات إنزيم B-

تبلغ اقصاها، ثم يبدأ الانتاج بالانخفاض وهذا يعود الى الزيادة الحاصلة في الضغط الاوزموزي خارج الخلايا بسبب تراكيز السكر العالية نسبياً، فضلاً عن تجمع الايثانول داخل خلايا الخميرة مما يؤدي الى نقصان في النمو والفعالية التخمرية (Damore et al., 1987). كما ذكر ان اعلى انتاج للايثانول بوساطة *S. cerevisiae* كان (4.6) % عند تركيز (10) % كلوكوز ثم يبدأ الانتاج بالانخفاض، وهذا يتوافق مع نتائج هذه الدراسة وكما موضح في الشكلين (A-1) (B-1)، اذ يلاحظ ان اعلى انتاج للايثانول والكتلة الحية كان (5.1) %، (4.4) % عند تركيز (10) % كلوكوز، و pH 5 بوساطة *S. cerevisiae*، ثم يبدأ الانتاج بالانخفاض عند ارتفاع تركيز الكلوكوز عن (10) %. وتوصل (Lee et al., 1995) في دراسته الى ان خميرة *S. cerevisiae* قد انتجت (4.8) % ايثانول من تركيز (9.95) % كلوكوز. وبينت النتائج وكما موضح في الاشكال (C-1) (D-1) (E-1) (F-1) ان افضل انتاج للايثانول والكتلة الحية بوساطة عزلتي *C. kefyri* (S و T) كان معنوية عند تركيز (6) % كلوكوز اذ انتجت العزلة *C. kefyri*-T (2.5) % ايثانول، و (2.9) % كتلة حية وانتجت العزلة *C. kefyri*-S (2.2) % ايثانول، (2.5) % كتلة حية عند pH 5. وهذا ربما يعود الى الاختلاف في سرعة امتصاص الكلوكوز حتى بين سلالات الخميرة الواحدة وهذا يتفق مع ما يذكره (Does & Bisson, 1988). ونستنتج من الاشكال (A-1) الى (F-1) المذكورة اعلاه ان خميرة *S. cerevisiae* هي الاعلى معنوية في انتاج الايثانول والكتلة الحية من سكر الكلوكوز مقارنة بعزلتي *C. kefyri* (S و T). وبينت النتائج في الاشكال (A-2) الى (F-2) ان خميرة *S. cerevisiae* هي اعلى معنوية في تحمل تراكيز الكالاكتوز من

الأمونيوم إلى الشرش تؤدي إلى زيادة نمو خميرة *Candida Pseudotropicalis* ولا تؤثر في استهلاك اللاكتوز. إنتاج الإيثانول من مزيج السكريات بواسطة الخمائر المفردة : أوضح الشكل (A-5) وجود نقصان معنوي في قدرة خميرة *S. cerevisiae* على إنتاج الإيثانول من جميع تراكيز المزيج المتساوي النسب لسكري (الكلوكوز ، والكالكتوز) مقارنة بانتاجها من السكريات المفردة عند 5 pH، إذ لوحظ أنها أنتجت من المزيج نصف كمية الإيثانول التي أنتجتها من الكلوكوز وهذا ربما يعود إلى عدم قدرتها على استهلاك الكالكتوز عند وجوده في المزيج وبتراكيز مساوي لسكر الكلوكوز. ووجد (Van den Birk et al., 2009) في دراسته، إن وجود الكلوكوز في مزيج متساوي مع الكالكتوز ، بسبب نقصان سريع في الطاقة يضعف تخليق بروتينات مسلك Lelior المسؤول عن أيض الكالكتوز في خميرة *S. cerevisiae* ، وذكر (Lagunas, 1993) إن أيض الكالكتوز في خميرة *S. cerevisiae* يتسفر بواسطة جين CaL_2 الذي يكبح بالكلوكوز ويتحفز بالكالكتوز . كما أوضح الشكلان (C-5)، (E-5) وجود نقصان معنوي في قدرة كل عزله من عزلت *C. kefyri* (S, T) على إنتاج الإيثانول من جميع تراكيز المزيج مقارنة بانتاجها من الكلوكوز المفرد وعند 5 pH، إذ لوحظ أن الإنتاج من المزيج هو أكثر من نصف الإنتاج من الكلوكوز المفرد وهذا ربما يعود لقدرة كل عزله على استهلاك الكلوكوز وجزء من الكالكتوز في المزيج وخلال (48) ، وتوصل (Ernandes et al., 1992) في دراسته ، إلى أن خلايا الخميرة المتكيفة لاستهلاك الكالكتوز تستطيع امتصاص الكلوكوز والكالكتوز في نفس الوقت عند وجودهما في مزيج متساوي النسب .

galactosidase التي تنتجها في الوسط، كما توصل (Castillo et al., 1982) ، في دراسته إلى أن أفضل إنتاج للإيثانول في الشرش وبوساطة *C. pseudotropicalis* كان (0.83) % وعند 4.57 pH. وعند تركيز (5) % لاكتوز . وبينت النتائج أن الإنتاج يبدأ بالانخفاض عند ارتفاع تركيز اللاكتوز في الشرش عن (6) %، فقد توصل (Kourkoutas et al., 2001) في دراسته إلى أن أعلى إنتاج للإيثانول بواسطة *K.marxianus* كان (0.7) % عند تركيز (7) % لاكتوز. وأظهرت النتائج عدم قدرة خميرة *S. cerevisiae* على إنتاج الإيثانول من الشرش الخام والشرش المدعوم بالمغذيات وذلك لعدم قدرتها على استهلاك اللاكتوز الذي يمثل المصدر الكربوني الوحيد في الشرش وتحويله إلى إيثانول. في حين بينت النتائج وكما موضح في الشكل (4) قدرة هذه الخميرة على النمو وإنتاج كتلتها الحية في الشرش الخام وعند جميع قيم ال pH ، وذلك ربما يعود لوجود المواد المغذية الأخرى مثل البروتينات والعناصر المعدنية وخاصة بروتين الكازين والكالسيوم وذكر (Berry et al., 1987) أن وجود بروتين الكازين في وسط نمو الخمائر يجهز الخلايا بمزيج من الأحماض الأمينية التي تسمح بسرعة نمو عاليه فضلا عن وجود الكالسيوم في الشرش الذي يكون له تأثير تحفيزي لنمو خميرة *Saccharomyces spp.* . وبينت النتائج أن إضافة المغذيات مثل فوسفات البوتاسيوم وكوريد الأمونيوم وكبريتات المغنيسيوم المائية 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) في دراسته إلى أن إضافة المغذيات مثل فوسفات البوتاسيوم وكبريتات

الشكل (G-5) يبين ان خميرة *S. cerevisiae* بالرغم من عدم قدرتها على استهلاك نصف المادة الاساس والمتمثله بالكالاكتورز الا انها افضل انتاجا للايثانول من جميع تراكيز المزيغ مقارنة بعزلتي *S. cerevisiae* عند pH 5 وهذا يعود لسرعتها في استهلاك الكلوكوز مقارنة باستهلاك الكلوكوز والكالاكتورز بواسطة كل عذلة من عزلتي (S, T) فقد توصل (Oleary et al., 1977) في دراسته الى انه بالرغم من الانتاج العالي للايثانول من الكالاكتورز المتحلل مسبقاً الى (كلوكوز وكالاكتورز) بواسطة خميرة *S. cerevisiae* الا انها لاتستهلك نصف المادة الاساس المتمثلة بالكالاكتورز وبذلك تعد هذه العملية مسرفة اقتصادياً. ويلاحظ في نفس الشكل ان العذلة (T) أفضل انتاجا للايثانول من جميع تراكيز المزيغ من العذلة (S) وهذا ربما يعود الى الكفاءة العالية لخلايا العذلة (T) في انتاج انزيم B-galactosidase في الوسط. ويلاحظ ان ارتفاع تركيز الكالاكتورز (8) %، يؤدي الى نقصان في الانتاج بواسطة كلا العزلتين، وذلك بسبب التأثير العكسي للمادة الاساس، وبالتالي تجمع الايثانول المنتج داخل خلايا الخميرة، وتوصل (Kourkoutas et al., 2001) في دراسته ان اقصى انتاج للايثانول كان (0.9) % من تركيز (7) % لاکتوز جاهز بواسطة خميرة *k.marxianus* ثم يبدأ الانتاج بالانخفاض عند ارتفاع تركيز الكالاكتورز عن (7) % وتوصل (Bothast et al., 1986) في دراسته الى ان إنتاج الايثانول من تراكيز مختلفة لسكر الكالاكتورز وبواسطة عدد من سلالات الخمائر المخمرة للاكتورز، ان معدل اقصى انتاج للايثانول وبواسطة اغلب السلالات كان يتراوح بين (0.31 - 0.43) % عند تركيز (10) % لاکتوز، ويبدأ الانتاج بالانخفاض عند ارتفاع تركيز الكالاكتورز من (10-20) % . وبينت النتائج، وكما موضح في الشكل (B-6) قدرة خميرة *S. cerevisiae* على انتاج الكتلة الحية ومن

الشكل (G-5) يبين ان خميرة *S. cerevisiae* بالرغم من عدم قدرتها على استهلاك نصف المادة الاساس والمتمثله بالكالاكتورز الا انها افضل انتاجا للايثانول من جميع تراكيز المزيغ مقارنة بعزلتي *S. cerevisiae* عند pH 5 وهذا يعود لسرعتها في استهلاك الكلوكوز مقارنة باستهلاك الكلوكوز والكالاكتورز بواسطة كل عذلة من عزلتي (S, T) فقد توصل (Oleary et al., 1977) في دراسته الى انه بالرغم من الانتاج العالي للايثانول من الكالاكتورز المتحلل مسبقاً الى (كلوكوز وكالاكتورز) بواسطة خميرة *S. cerevisiae* الا انها لاتستهلك نصف المادة الاساس المتمثلة بالكالاكتورز وبذلك تعد هذه العملية مسرفة اقتصادياً. ويلاحظ في نفس الشكل ان العذلة (T) أفضل انتاجا للايثانول من جميع تراكيز المزيغ من العذلة (S) وهذا ربما يعود الى الكفاءة العالية لخلايا العذلة (T) في انتاج انزيم B-galactosidase في الوسط. ويلاحظ ان ارتفاع تركيز الكالاكتورز (8) %، يؤدي الى نقصان في الانتاج بواسطة كلا العزلتين، وذلك بسبب التأثير العكسي للمادة الاساس، وبالتالي تجمع الايثانول المنتج داخل خلايا الخميرة، وتوصل (Kourkoutas et al., 2001) في دراسته ان اقصى انتاج للايثانول كان (0.9) % من تركيز (7) % لاکتوز جاهز بواسطة خميرة *k.marxianus* ثم يبدأ الانتاج بالانخفاض عند ارتفاع تركيز الكالاكتورز عن (7) % وتوصل (Bothast et al., 1986) في دراسته الى ان إنتاج الايثانول من تراكيز مختلفة لسكر الكالاكتورز وبواسطة عدد من سلالات الخمائر المخمرة للاكتورز، ان معدل اقصى انتاج للايثانول وبواسطة اغلب السلالات كان يتراوح بين (0.31 - 0.43) % عند تركيز (10) % لاکتوز، ويبدأ الانتاج بالانخفاض عند ارتفاع تركيز الكالاكتورز من (10-20) % . وبينت النتائج، وكما موضح في الشكل (B-6) قدرة خميرة *S. cerevisiae* على انتاج الكتلة الحية ومن

انتاج الكتلة الحية من جميع تراكيز المزيج عند استعمال نفس المزارع المشتركة المذكورة اعلاه والمزرعة المشتركة بين (*C. - T, C.kefyr-S, S.cerevisiae*) من استعمال المزارع المفردة لهذه الخمائر. وهذا ربما يعود بصورة عامة لغياب ظاهرة التخمر المتسلسل للسكريين والذي يبدأ بالكوكوز اولاً قبل الكالكتوز في المزارع المفردة و بالتالي عدم وجود فترة تكيف لنمو ثانوي يسبق استهلاك الكالكتوز، وتوصل (Schaarschmidt & Lamprecht, 1977) في دراستهما الى ان وجود اكثر من سكر احادي في الوسط يؤدي الى نمو ثنائي لخميرة *S.cerevisiae*، حسب تكيف خلايا الخميرة الى كل سكر، وتوصل (Rouhollah et al., 2007) الى ان انتاج الايثانول من مزيج سكريات (الكوكوز، الكالكتوز، المانوز) ان خميرة *S.cerevisiae* قد انتجت (2.3) % ايثانول و (0.5) % كتلة حية في مزرعه مشتركة مع خميرة *P. stipitis* في حين انتجت خميرة *S.cerevisiae* (1.4) % ايثانول، و (0.8) % كتلة حية عند وجودها في مزرعة مفردة. وبينت النتائج ان المزارع المشتركة ما بين خميرة *S.cerevisiae* وعزلتي *C.kefyr* هي الاكثر انتاجاً للايثانول والكتلة الحية من جميع تراكيز المزيج مقارنة بالمزرعة المشتركة (S) - (*C. kefyr - T, C.kefyr*) وهذا يعود لوجود سكر الكوكوز الجاهز في الوسط، وقدرة خميرة *S.cerevisiae* على الاستهلاك السريع للكوكوز وتحويله الى ايثانول، في حين يستهلك الكالكتوز بواسطة *C.kefyr*، ويلاحظ ان المزرعة المشتركة بين (*C. - T, S.cerevisiae*) اكثر انتاجاً للايثانول والكتلة الحية من المزرعة (*C. - S, S.cerevisiae*) (*kefyr*) اذ انتجت (8.7) % ايثانول، و (5.0) % كتلة حية من تركيز (10) % مزيج في حين انتجت المزرعة (B-7) وجود نقصان معنوي في

جميع تراكيز وسط اللاكتوز، وقد لوحظ تقارب بين هذه القيم وصولاً الى اعلى انتاج (2.8) % عند تركيز (8) % لاكتوز، وهذا التقارب ربما يعود الى عدم استهلاك هذه الخميرة لجميع تراكيز اللاكتوز في حين قدرتها على استهلاك مكونات الوسط الاخرى من المصادر النتروجينية المتمثلة بالببتون ومستخلص الخميرة والاملاح المعدنية مثل فوسفات البوتاسيوم الثابتة القيم. ذكر (Rhodes & Fletcher, 1977) ان جميع الكائنات المجهرية تحتاج الى مصادر الكربون، و النتروجين والاملاح المعدنية للقيام بفعاليتها الفسيولوجية. ويلاحظ انخفاض في الانتاج عند ارتفاع تركيز اللاكتوز في الوسط عن (8) %، وهذا ربما يعود الى زيادة الضغط الاوزموزي على خلايا الخميرة والمتولد في التراكيز العالية لسكر اللاكتوز غير المستهلك في الوسط وتوصل (Ozmihici & Kargi, 2007) في دراسته الى ان وجود اللاكتوز والمغذيات الذائبة الاخرى في وسط التخمر تساهم في زيادة الضغط الاوزموزي مسببة تثبيط في ابيض الخلايا. ويوضح الشكل نفسه ان عزلتي (S,T) *C.kefyr* اقل انتاجاً للكتلة الحية من جميع تراكيز اللاكتوز من خميرة *S.cerevisiae* وهذا يعود الى قدرة *S.cerevisiae* في النمو فقط على مكونات الوسط الاخرى مع عدم قدرتها على استهلاك اللاكتوز.

انتاج الايثانول من مزيج السكريات بواسطة مزيج الخمائر

في الشكل (A-7) توجد زيادة معنوية ملحوظة في إنتاج الايثانول من جميع تراكيز المزيج المتساوي النسب لسكري (الكوكوز و الكالكتوز) عند استعمال خميرة *S.cerevisiae* في مزارع مشتركة مع عزلتي *C.kefyr* (T,S) وعند استعمال المزرعة المشتركة بين هاتين العزلتين من استعمال المزارع المفردة لهذه الخمائر، بالمقابل لوحظ في الشكل (B-7) وجود نقصان معنوي في

كتلة الخلية و لانتاج الايثانول ، وتوصل
(Hansen et al., 2001) في دراسته الى
ان وجود الاوكسجين لا يؤثر في نمو وبقاء
خميرة *S.cerevisiae* عند وجودها في
مزارع مشتركة مع خمائر اخرى. وبذلك
يتأثر نمو وفعالية كلا العزلتين، مؤديا الى
النقصان في الانتاج الكلي لهذه المزرعة
مقارنة بالمزارع المشتركة
(*C.kefyr* - *T*, *S.cerevisiae*) ،
(*C.kefyr* - *S*, *S.cerevisiae*)
ويلاحظ ان اضافة *S.cerevisiae* الى
المزرعة المشتركة (*S*-*C.kefyr* -*T*،
C.kefyr) يؤدي الى نقصان معنوي في
الانتاج الكلي، للايثانول ، بسبب التأثير
التثبيطي لهذه الخميرة على عزلات
C.kefyr في استهلاك الكالكتوز في
الوسط ، خاصة وقد لوحظ ان انتاج
الايثانول من كلوكوز المزيج بواسطة
S.cerevisiae هو اقل من انتاج الايثانول
من المزيج بواسطة المزرعة المشتركة
(*S*-*C.kefyr* -*T*، *C.kefyr*) كما
موضح في الشكل (A-7) ، في حين لوحظ
زياده معنويه في انتاج الكتلة الحية عند
اضافة *S.cerevisiae* الى هذه المزرعة
وهذا ربما يعود لنمو *S.cerevisiae* الذي
يعوض النقصان الحاصل نتيجة تثبيط كلا
العزلتين، خاصة وقد لوحظ ان الكتلة
الحية المنتجة بواسطة *S.cerevisiae* من
المزيج هي اعلى بكثير من الكتلة الحية
المنتجة بواسطة المزرعة المشتركة (*S*-
C.kefyr -*T*، *C.kefyr*) وكما موضح في
الشكل (B-7). ويشير الشكل (A-8) الى
وجود زيادة معنويه ملحوظة في انتاج
الايثانول من جميع تراكيز اللاكتوز الجاهز
عند استعمال المزارع المشتركة بين خميرة
S.cerevisiae (الغير القادرة على انتاج
الايثانول من اللاكتوز مباشرة) وعزلتي
C.kefyr (*S* , *T*) والمزرعة المشتركة
بين عزلتي (*S*,*T*) من استخدام المزارع
المفردة لهتين العزلتين وهذا ربما يعود الى
وجود سكر الكلوكوز الناتج من تحلل

(*C. kefyr* - *S*, *S.cerevisiae*) (7.2)
%ايثانول، و (4.7) %كتلة حية من نفس
التركيز، وهذا ربما يعود لسرعة العزله *T*
في استهلاك الكالكتوز مقارنة بالعزلة
S، وانتجت المزرعة المشتركة (*S*-
C.kefyr - *T*, *C.kefyr*) (C. %
(4.1)ايثانول ، % (2.0)كتله حيه وخلال
(48) ساعة وان ارتفاع تركيز المزيج عن
(10) % يؤدي الى انخفاض في الانتاج
وهذا ربما يعود لتجمع الكالكتوز في
الوسط نتيجة عدم قدرة خميرة *C.kefyr*
على تحمل تراكيز الايثانول المنتجة في
الوسط وبالتالي التأثير التثبيطي لهذه
التراكيز على ايض الكالكتوز في المزارع
المشتركة بين *S.cerevisiae* و *C.kefyr*
وايضا الكلوكوز والكالكتوز في المزرعة
المشتركة بين عزلتي *C.kefyr* .
وتوصل (Karmini &
(Guanasekaran. 1987) الى انتاج)
(5.4) % ليثانول، و (6/5) %كتلة حية من
تركيز (20) % مزيج (كلوكوزو
كالكتوز) بواسطة المزرعة المشتركة بين
خميرة *K.fragilis* وبكتريا *Z.mobilis*
السريرة الاستهلاك للكلوكوز خلال (48)
ساعة ، لاحظ تثبيط الانتاج عند ارتفاع
تركيز المزيج عن (20) % وعزى ذلك
الى عدم قدرة *K.fragilis* على تحمل
تراكيز الايثانول في الوسط وبالتالي تراكم
الكالكتوز في الوسط . وبينت النتائج كما
في الاشكال المذكورة اعلاه ان اضافة
العزلة *C.kefyr* -*T* الى المزرعة
المشتركة (*S* , *S.cerevisiae* -
C.kefyr) ، او العزلة *S*-*C.kefyr* الى المزرعة
المشتركة (*C.kefyr* - *T*, *S.cerevisiae*)
(يؤدي الى نقصان معنوي في الانتاج
الكلي، للايثانول و الكتلة الحية ، وهذا ربما
يعود للدور التثبيطي لكل عزله على
الاخرى نتيجة قلة الاوكسجين الذائب في
الوسط مقارنة مع وجود ثلاث كائنات حية
وذكر (Peppler & Perlman, 1979) ان
الاوكسجين القليل الاولي ضروري لانتاج

الكتلة الحية من جميع تراكيز اللاكتوز عند استعمال المزارع المشتركة المذكورة اعلاه مقارنة بالمزارع المفردة. وهذا ربما يعود لنمو *S. cerevisiae*، وتوصل Karmini (1987) Guanasekaran. الى زيادة في انتاج الكتلة الحية من اللاكتوز الجاهز عند استعمال المزرعة المشتركة بين خميرة *K. fragilis* وبكتريا *Z. mobilis* من استعمال المزرعة المفردة لـ *K. fragilis* وعزى ذلك لنمو بكتريا *Z. mobilis*. بينت النتائج وكما موضح في الاشكال اعلاه وجود نقصان معنوي في انتاج ال ايثانول و الكتلة الحية عند استعمال المزرعة المشتركة الثلاثية (*S. cerevisiae* - *T. C. kefyri* - *C. kefyri*) وهذا ربما يعود لقلة الاوكسجين الذائب في الوسط، نتيجة لوجود (*S. cerevisiae*) والذي يؤثر في نمو وفعالية عزليتي *C. kefyri*، مؤديا الى نقصان في نموها و انتاجهما لانزيم-B galactosidase وبالتالي نقصان المواد السكريه المتحررة لانتاج ال ايثانول وان سبب النقصان في النمو هو ان الكتلة الحية التي تنتجها (*S. cerevisiae*) من اللاكتوز هي اقل بكثير من الكتلة الحية التي تنتجها المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae* - *T. C. kefyri*) وكما موضح في الشكل (B-7) ..

المصادر References

- [1] Agu, R.C.; Amadife, A.E.; Ude, C.M.; Onyia, A.; Ogu, E.O. and Okafor, M. (1997). Combind heat treatment and acid hydrolysis of cassava grate waste (CGW) biomass for ethanol production. J. waste manag.; 17,1: 91-96.
- [2] Aguilera, F.; Peinado, R.A.; Millan, C.; Ortega, J.M. and Mauricio, J.C. (2006). Relationship between ethanol

اللاكتوز بوساطة انزيم B-galactosidase المنتج من قبل *C. kefyri*. وقدرة *S. cerevisiae* على الاستهلاك السريع للكلوكوز وتحويله الى ايثانول في حين يستهلك الكالاكتوز بوساطة *C. kefyri* في المزرعة المشتركة بين *S. cerevisiae*، و *C. kefyri* ولزيادة عدد وحدات انزيم B-galactosidase المنتجة بوساطة كلا العزلتين في المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae* - *T. C. kefyri*) مقارنة بعدد الوحدات المنتجة بوساطة عزلة واحدة سواء كانت في مزرعة مفردة او مزرعة مشتركة مع *S. cerevisiae*، وبذلك زيادة في سرعة تحلل اللاكتوز غير المنكسر مسبقا الى وحداته من سكري (الكلوكوز و الكالاكتوز) القابلين للتخمر لانتاج ال ايثانول، اذ انتجت المزرعة المشتركة بين (*S. cerevisiae* - *T. C. kefyri*) (4.6) % ايثانول ن تركيز (8) % وانتجت المزرعة المشتركة *S. cerevisiae* و *T. C. kefyri* (4.0) % ايثانول وانتجت المزرعة المشتركة (*S. cerevisiae* و *C. kefyri*) (3.8) % عند نفس التركيز، وتوصل Karmini & Gunasekaran., (1987) في دراسته الى انتاج (5.5) % ايثانول من تركيز (20) % لاكتوز جاهز عند استعمال المزرعة المشتركة بين خميرة *K. fragilis* وبكتريا *Z. mobilis*. ان ارتفاع تركيز اللاكتوز عن (8) % يؤدي الى نقصان في الانتاج بوساطة جميع المزارع المشتركة، وهذا يعود الى عدم قدرة خميرة *C. kefyri* على تحمل تراكيز ال ايثانول المنتجة في الوسط وبالتالي التأثير التثبيطي لهذه التراكيز في فعالية هذه الخميرة في انتاج انزيم B-galactosidase، وبالتالي نقصان في تحلل اللاكتوز الى السكريات القابلة للاستهلاك والتخمر بوساطة *S. cerevisiae*. وبينت النتائج من الشكل (B-8) وجود زيادة معنوية في انتاج

- Whey by Mixed Culture of *Candida Kefyr Ly496* and *Candida Valida Ly 497*. *J. Biotech Lett.* ; 13: 437 – 440.
- [9]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.
- [10]Coté, A.; Brown, W. A.; Cameron, D. and Van Walsum, G. P. (2004). Hydrolysis of Lactose in whey permeate for Subsequent fermentation to Ethanol. *J. Dairy Sci.*; 87: 1608-1620.
- [11]Damore, T.; Chandra, J.; Panchal, and Stewart, G. (1987). Intracellular Ethanol Accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* during Fermentation. *J. Appl and Environ. Microbiology.*; 54, 1: 110 – 114.
- [12]Dhawale and Ingledew, W. M. (1983). Starch Hydrolysis by depressed Mutants of *Schwanniomyces Castellii*. *J. Biotechnol. Lett.* ; 5, 3: 185-190.
- [13]Does,A.and Bisson,L.F.(1988).Comparision of glucose uptake kinetics in different yeasts. *J. Bacteriology* ;3:1303-1308.
- [14]Ernandes,J. R. ; Williams, J. W. and Stewart, G.G. (1992). Simultaneous Utilization of Galactose and Glucose by *Saccharomyces spp.* *J. Biotechnol Tech.*; 6, 3. tolerance , H⁺-ATPase activity and the Lipid composition of the plasma membrane in different wine yeast strains. *Int J. food microbiol.*; 110: 34-42.
- [3]Ali, M.; Mork, R. and Daniel, S. (2006). Conditioning hemicelluloses hydrolysates for fermentation: Effect of overlimiting pH on sugar and ethanol yields. *J. Elsevier, oxfoed.*; 41, 1806-1811.
- [4]Araujo, C. A.; Pacheco, A. Almeida, M. J.; Martins, S.; Leao, C. and Sousa, M.J. (2007). Sugar utilization paterns and respirofermentative metabolism in the baker's yeast *Torulaspora delbruecki*.*J. Microbiology.*; 153: 898-904.
- [5]Berry, D. R.; Russeu, I. and Stewart, G. G. (1987). *Yeast Biotechnology*. Great Britain by St. Edmondsburg Press, Suffolfe: pp 165.
- [6]Borzani, W. (2006). Batch Ethanol Fermentation: The Correlation between the Fermentation Efficiency and the Biomass Initial Concentration Depends on what is Considered as Produced Ethanol. *Brazillian Journal of Microbiology.* ; 37: 87 – 89.
- [7]Bothast,R.J.;Kurtzman,C.P. and Sattarelli,M.D.(1986).Ethanol production by 107 strains of yeasts on(5,10,20)% lactose.*J.Biotech.lett.*;8:593-596.
- [8]Carlotti, A.; Jacob, F.; Pavvier, J. and Poncet, S. (1990). *Yeast Production from Crude Sweet*

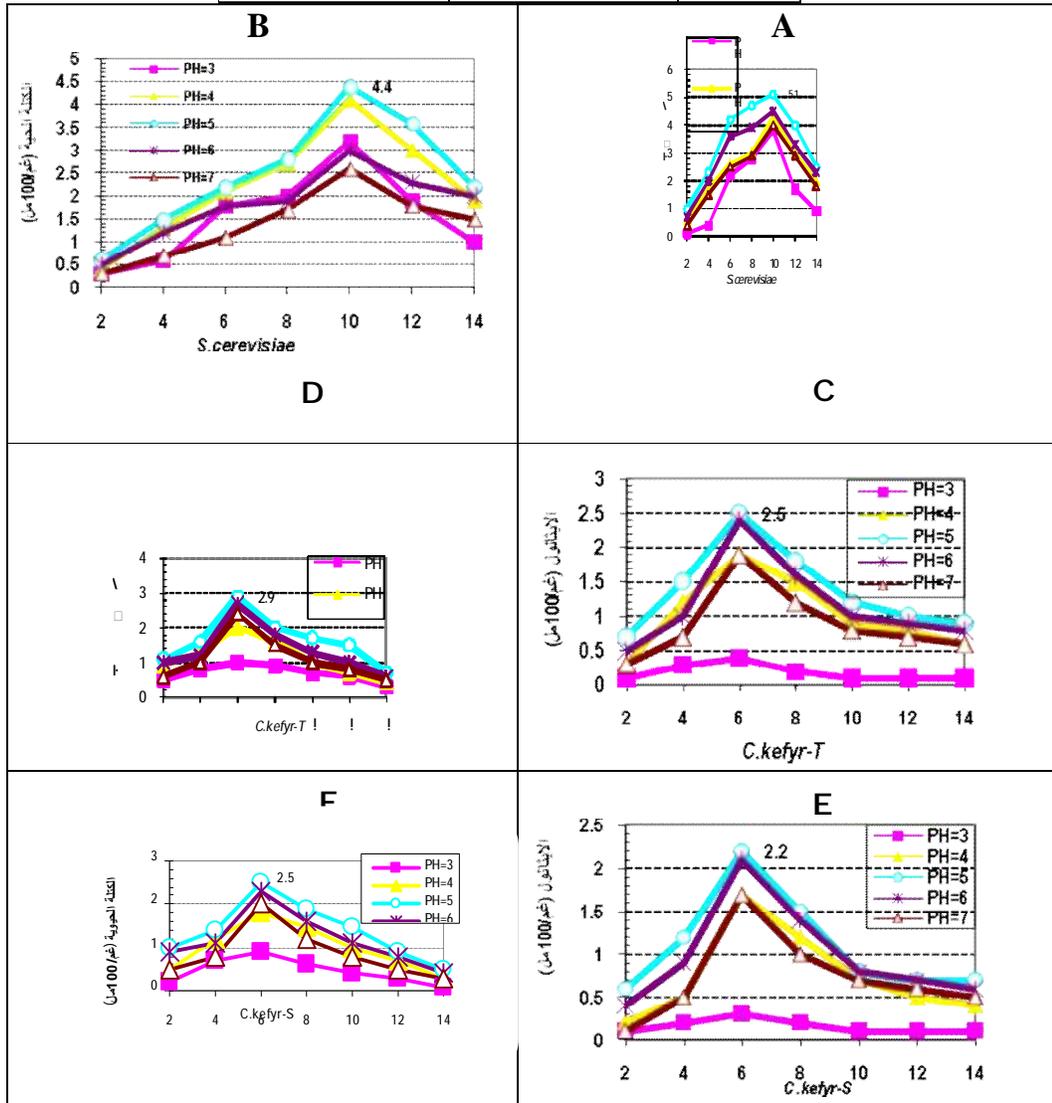
- [20] Hari, K.; Janardhar, R. T. and chowdary, G.V. (2001). Stimultaneous Saccharfication and fermentation of Lignocelluosic wastes to ethanol using a thermotolerant yeast. *J.Bioresour Technol.*; 77, 2:193-196.
- [21] Karmini, N.R. and Gunasekaran, P.(1987). Stimultaneous ctose by *Kluyveromyces fragilis* and *Zymomonas mobilis*. *J. curr. Microbiology.* ; 16, 153-157.
- [22] Kourkoutas, Y. ; Dimitropoulou ,S. ; Marchant ,R. and Banat, I. M. (2001). hey liquid waste of dairy industryW as raw material for fermentation with the thermophilic *Klyveromyces marxianus*IMB3. *J. Environ.Sci. Tech.*;7:226-233.
- [23] Kumar, J.V.; Shahbazi, A. and Mathew, R. (1998). Biconversion of solid food wastes to ethanol. *J. Analyst.*; 123: 497-502.
- [24] Lee, S. Y.; Lee, G. W.; chang, K.Y. and Chang, N. H. (1995). Modelling of ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* from a glucose and Maltose mixture. *J. Biotechnol. Lett.* ; 17, 8: 791-796.
- [25] Lodder, J. (1970). The yeast. Ataxonomic study. 2nd ed. North Holand. Pnp: Amesterdam. NETH.
- [26] Moeini, H. ;Nahvi,I. and Tavassoli,M.(2004). Identification of Yeast Strains with High Beta –
- [15] Fields, M.L. (1982). Fundamentals of food microbiology. AVI publishing company, Inc. Westport, Connecticut.
- [16] Gadaga, T.H.; Bennie, C.V. and Narrhus, J.A.(2007). Volatile organic compounds in naturally fermented milk and milk fermented using yeasts, Lactic acid Bacteria and their combination as starter cultures. *J.food Biotechl.*; 45,2: 195-200.
- [17] 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.
- Ethanol production from La[18]Granda, C.; Zhu, L. and Hottzapple, M. (2007). Sustainable liquid biofueles and their environmental impact. *J. Environ process.*; 3:233-250.
- [19] Hansen, E.H.; Nissen, P.; Nilsen, J.C. and Ameborg, N.(2001). The effect of oxygen on the survival of non-*Saccharomyces* yeasts during mixed culture fermentation of grape juice with *Saccharomyces cerevisiae*. *J. APPL. Microbiology.*; 91, 3:541-547.

- [33]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.
- [34]Peppler, H.J. and Perlman, D.(1979). *Microbiol. Technology*. Academic press, Inc.; 2nd :27-29.
- [35]Perry's, R.H. and Chitton, C.H. (1991). *Chemical engineering handbook*. MC., Gram Hill, 6th edition.
- [36]Pirselova, K.; Smogrovicova, D. and Balaze, S. (1993). Fermentation of starch to Ethanol by a co-culture of *Saccharomycopsis fibulgera* and *Saccharomyces cerevisiae*. *W. J. microbial. biotech.* ; 9: 338-341.
- [37]PlanitKav, SS.& Lochke, AH. (1990). *Efficiltaneous saccharification and fermentation of agricultural residues by saccharomyces*
- [38]Rhodes, A. and Fletcher, D. (1977). *Principles of industrial microbiology*. Pergamon press. 3ded, chap 6.
- [39]Rouhollah, H.; Iraj, N.; Giiti, E. and Sorah, A. (2007). Mixed sugar fermentation by *pichia Stipitis*, *Saccharomyces cerevisia* and isolated xylose fermenting *Klyveromyces marxianus* and their cocultures. *African. J. Biotech.* ; 6,9: 1110-1114.
- [40]Sanchez, S.; Bravo, V.; Castro, E.; Moya, J. A. and Camacho, F. (2002). The Galactosidase Activity from Dairy Products. *J. Biotechnol.*; 3: 35 – 40.
- [27]Moor, K. E. (1983). *Manual of general Microbiology*, Kuwait University.
- [28]Morris, M. and Hill, A. (2006). *Ethanol Opportunities and Questions*. <http://atrancat.org/attr-pub/pdf/ethanol/.pdf>
- [29]Moulin,G. and Galzy, P. (1984). Whey, apotentil Substrate for Biotechnology. *J. Biotech. Gen. Eng Rev.*; 1: 347-373.
- [30]Neelakantam, V.; Narendranath, and Power, R. (2004). Relationship between PH and Medium Dissolved Solids and Metabolism of *Lactobacilli* and *Saccharomyces Cerevisiae* in Ethanol Production. *J. Appl. Environ. Microbiol.* ; 71, 5: 2239 – 2243.
- [31]OLEary, V. S.; Suttom, C.; Beacivengo, M.; Culivan, B. and Holsinge, V. H. (1977). Influence of lactose Hydrolysis and Solids Concentration of Alcohol Production by Yeasts in Acid Whey Ultra Filtration. *J. Biotechnol. Bio. Eng.*; 19: 1689 – 1702.
- [32]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.

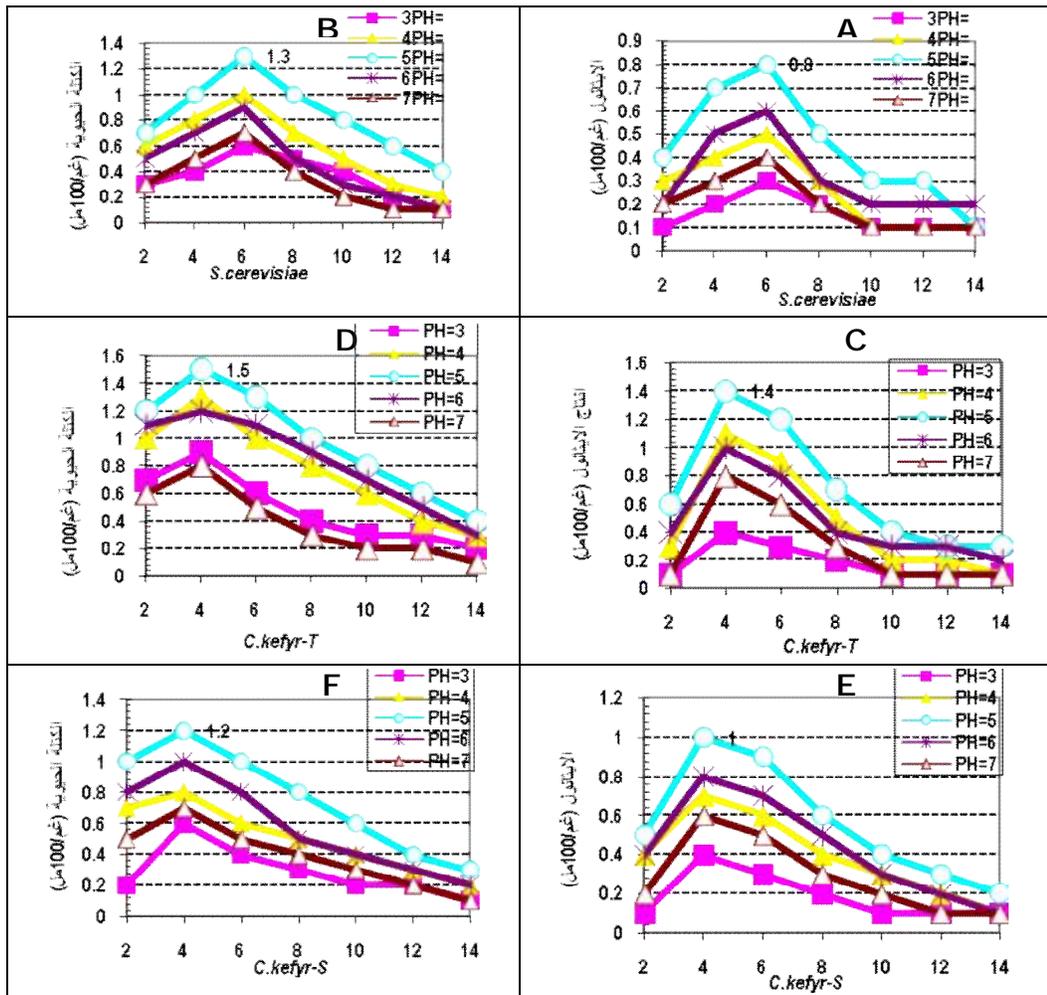
- [46]Thuesombat, P.; Thanonkeo, P.; Laopaiboon, L.; Laopaiboon, P. and Thanakeo, S.(2007). The batch ethanol fermentation of Jerusalem Artichoke using *Saccharomyces cerevisiae*. *J.kmitl. sci. tech.*; 7: 93-96.
- [47]Van den Birk, J.; Akeryd, M.; Van der Hoeven, R.; Pronk, J.T. and Winde, J.H. (2009). Energetic Limits to Metabolic Flexibility: Responses of *Saccharomyces cerevisiae* to glucose - galactose Transition. *J. Microbiol.* ; 155:1340-1350.
- [48]Van Maris, A. J. A.; Abbot, D. A.; Bellissimi, E.; Van Brink, J.; Kuyper, M.; Luttik, M. A. H.; Wisselink, H. W.; Scheffers, W. A.; Van
- [49]Dijken, J. P. and Pront, J. T. (2006). Alcoholic Fermentation of Carbon Sources in Biomass Hydrolysates by *Saccharomyces Cerevisiae*. *J.Antonie van leeuwenhoek.*; 90: 391 – 418.
- [50]Ward, O. P. (1989). *Fermentation Biotechnology, Great Britain by Oxford University Press*, p: 108.
- [51]Wyder, M.T.(2001). Yeast in Dairy products. *Fam -info.*; 425: 3-4.
- [52]Zeyed, G. and Meyer, O. (1996). Single Batch Bioconversion of wheat Straw to Ethanol Employing the fungus. *J. Appl. Microbiol Biotech.*; 45, 41: 551-555.
- fermentation of Mixtures of D-glucose and D-xylose by *Candida Shehattae*, *Pichia stipitis* or *Pachyolen tannophilus* to produce ethanol. *J.chem. Biotech.* ; 77: 641-648.
- [41]Schuarschmidt, B. and Lamprecht, I. (1977). Microrimetric Investigation of the metabolism of the yeasts. *J. Rad and Environ. Biophys.*; 14: 153-160.
- [42]Shou-chang,k.;Michael,s.;Christense nandCirillo,v.p.(1970). Galactose transport in *Saccharomyces cerevisia*. *J.Bact.*;103:671-678.
- [43]Singh, D.; Banat, I. M.; Nigam, P. and Morchant, R. (1998). Industrial Scale ethanol production using the thermotolerant yeast *Klyveromyces marxianus* IM33 an Indian distillery. *J. Biotech. lett.*; 20,8: 753-755.
- [44]Snedecore,G.W. and Cochran,W.G.(1968). *Statical methods Iowa state university. Press,Iowa.*
- [45]Szombelan, K.; Nowak, J. and Czarnecki, Z. (2004). Use of *Zymomonas mobilis* and *Saccharomyces cerevisia* mixed with *Klyveromyces marxianus* for improved ethanol production from Jerusalem artichoke tubers. *J. Biotech. Lett.* ; 26,10:845-848.

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

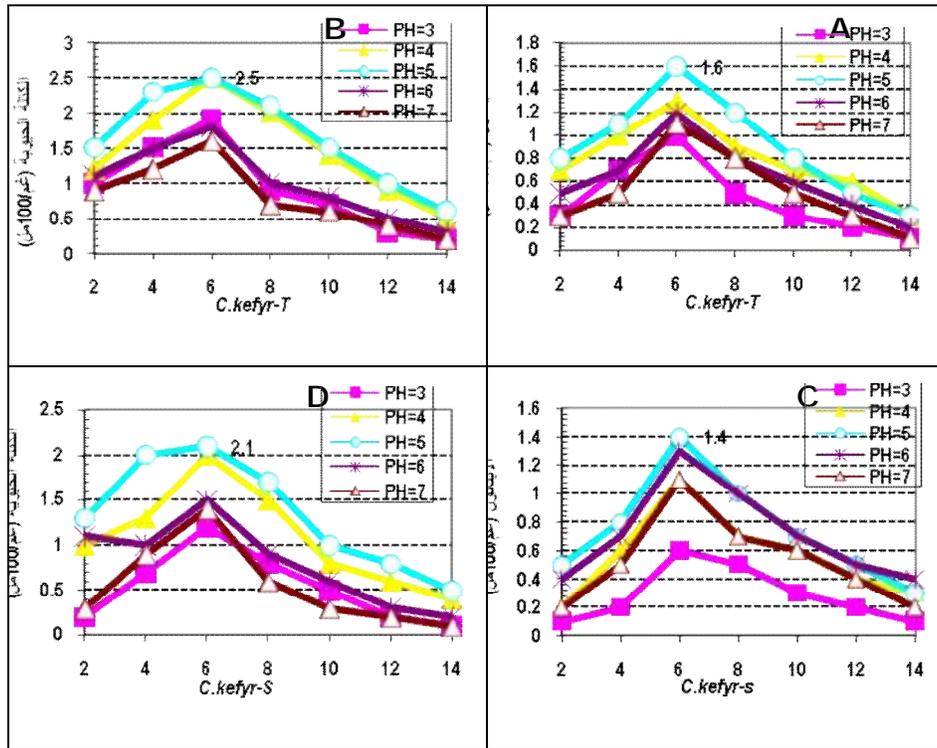
تركيز الايثانول باستخدام طريقة كمية	تركيز الايثانول باستخدام طريقة النوعية	العينات
0.333	0.4	2%
0.7	0.65	4%
1.339	1.3	6%
1.529	1.7	8%
1.937	1.8	10%



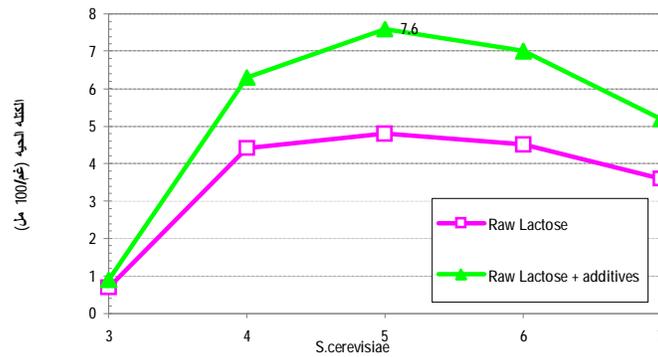
شكل (1): تأثير تركيز الكوكوز % والـ PH في انتاج الايثانول ووزن الكتلة الحية
للخميرة عند 35 م° مدة يومين



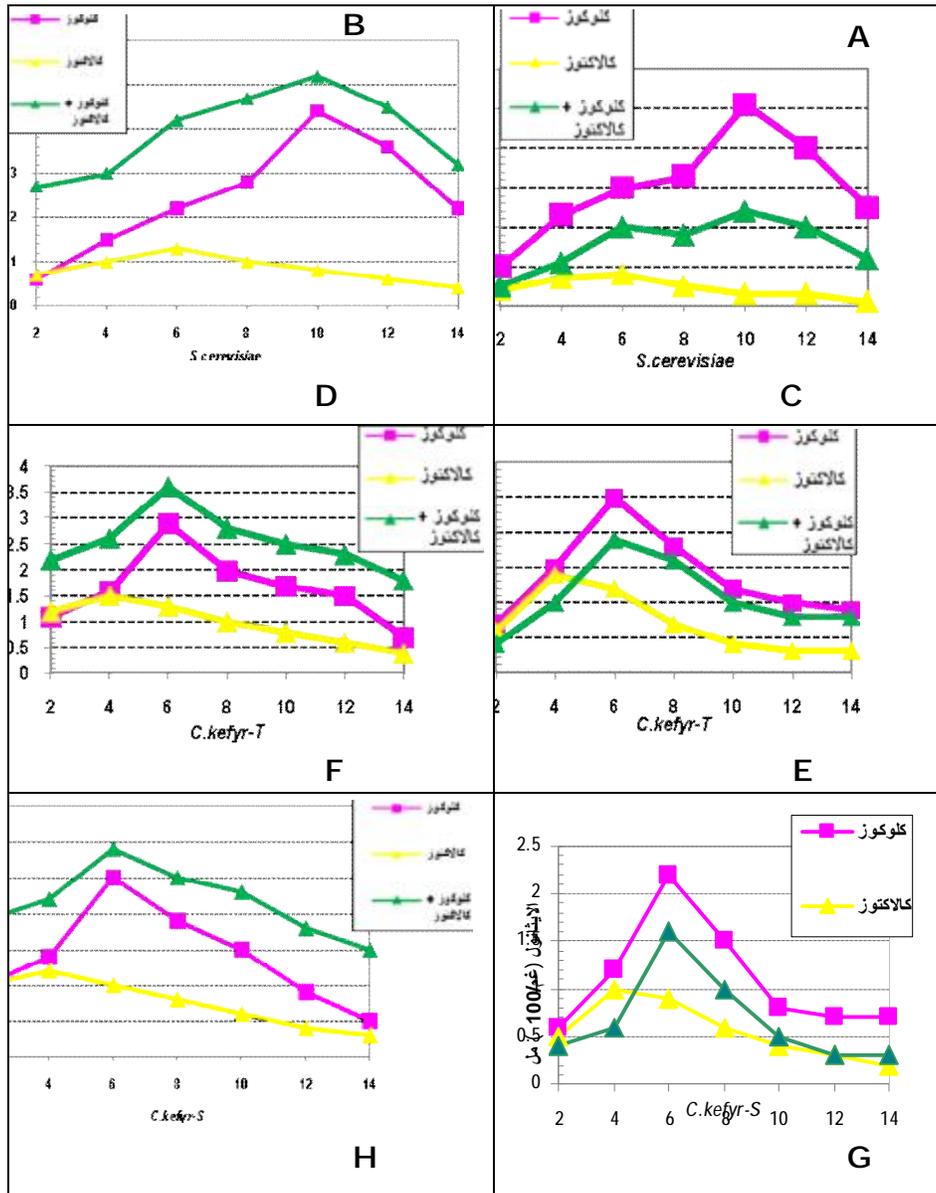
شكل 2: تأثير تركيز الكالكتوز % والـ pH في إنتاج الايثانول والكتلة الحيوية للخميرة عند 35° مدة يومين

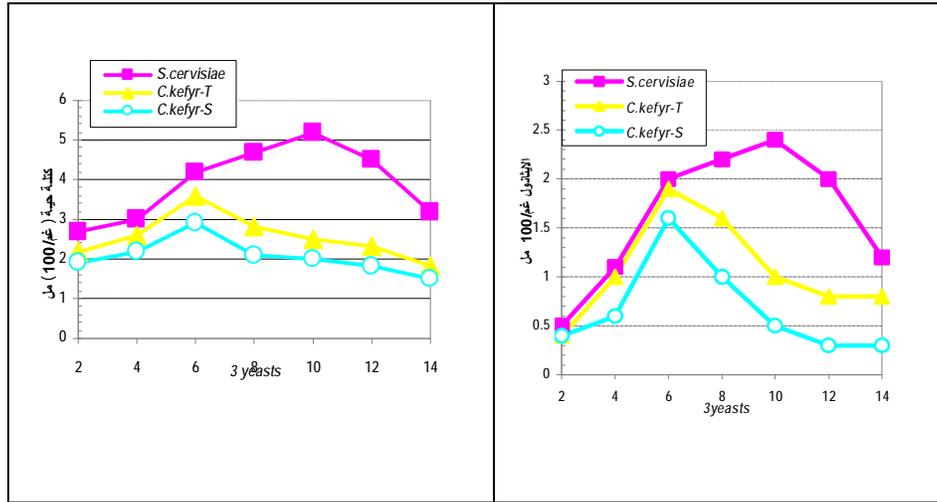


شكل 3: تأثير تركيز اللاكتوز % و pH في إنتاج الايثانول والكتلة الحيوية للخميرة عند 35°م مدة يومين

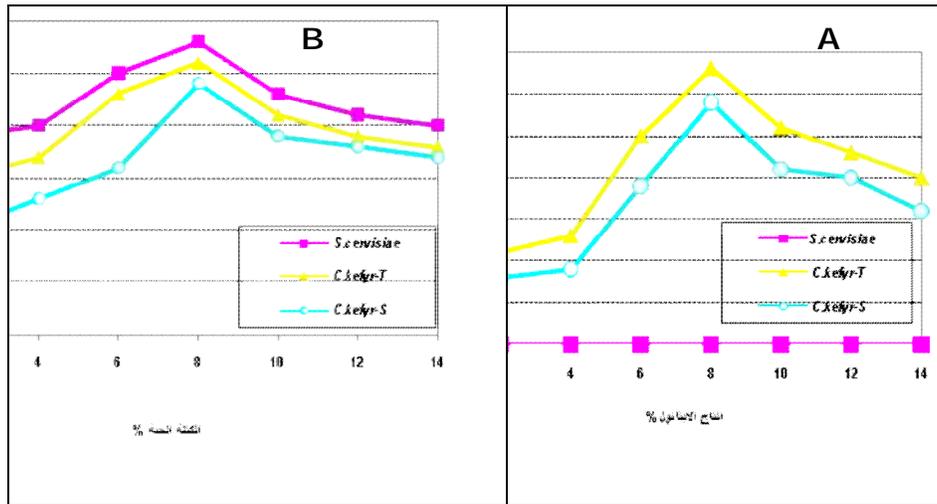


شكل 4: تأثير المغذيات و pH في وزن الكتلة الحية لنمو *S. cerevisiae* في 4% لاكتوز الشرش عند 35°م مدة يومين

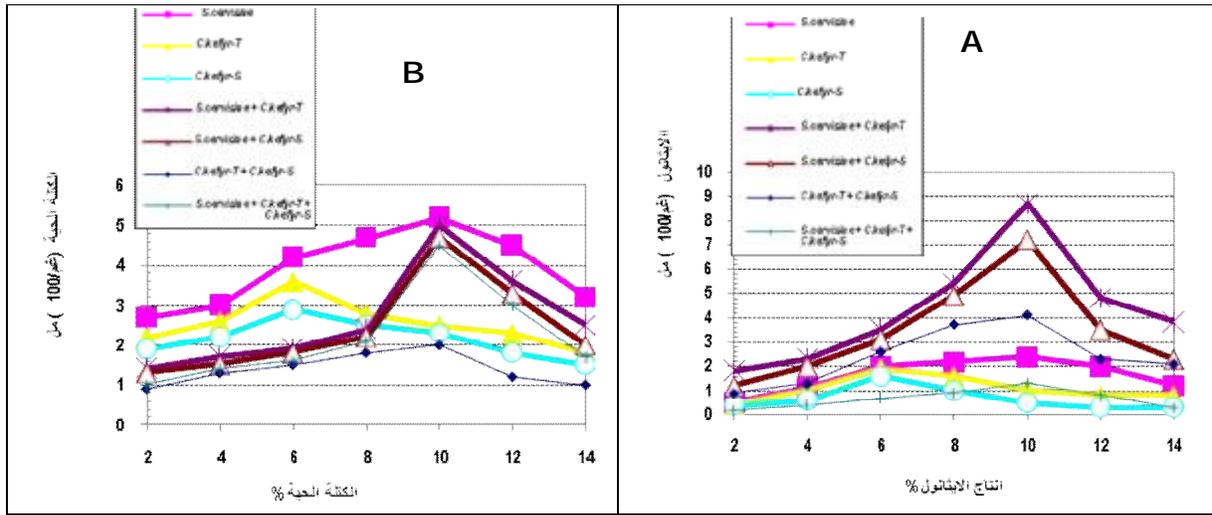




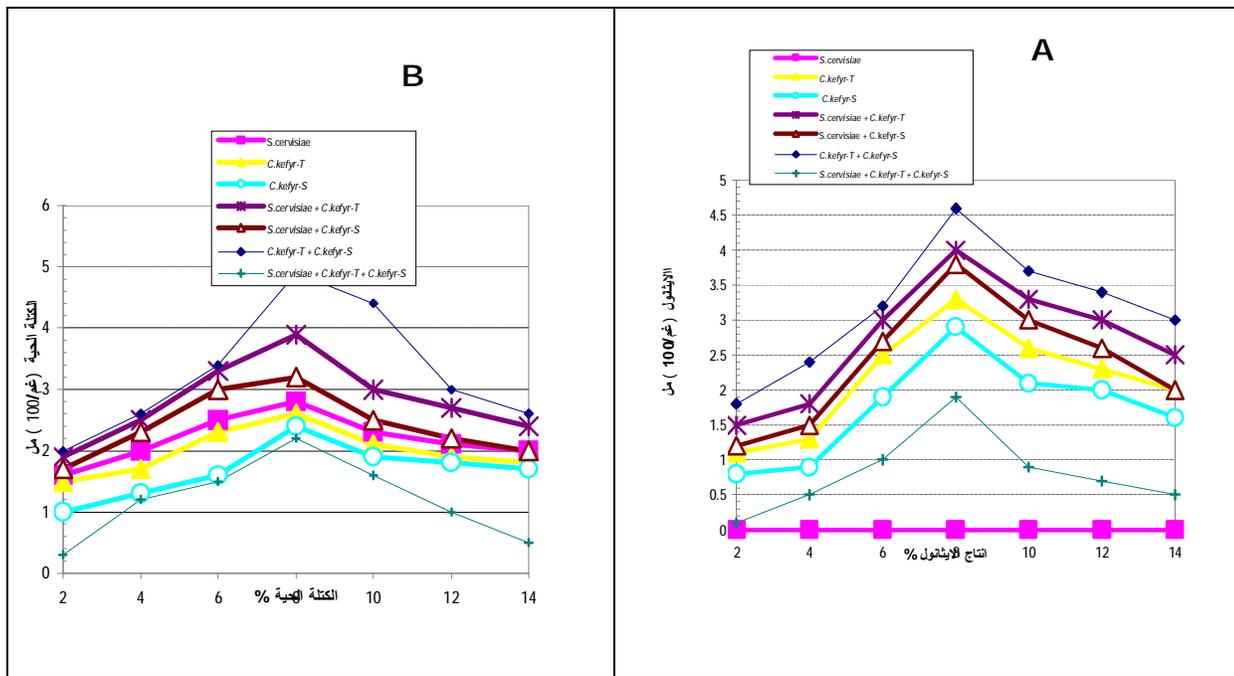
شكل 5: تأثير مزيج (كلوكوز وكالكتوز) % في إنتاج الايثانول والكتلة الحيوية عند pH_5 و $35^\circ C$ مدة يومين



شكل 6: تأثير تركيز اللاكتوز % في إنتاج الايثانول والكتلة الحيوية لنمو ثلاث خمائر انفرادياً عند pH_5 و $35^\circ C$ مدة يومين



شكل 7: تأثير تركيز مزيج (لكوكلوز وكالانتوز) % في إنتاج الايثانول والكتلة الحية لنمو الخمائر المفردة والمشاركة عند pH_5 و $35^\circ C$ مدة يومين



شكل 8: تأثير اللاكتوز % في إنتاج الايثانول والكتلة الحية لنمو الخمائر المفردة والمشاركة عند pH_5 و $35^\circ C$ مدة يومين