تقييم مؤشرات الجودة للبروتين الحيوي المستخلص من خميرة *Kluyveromyces lactis* المنماة على راشح مصل الجبن الحلو

إبراهيم صافيتا* سمير سليق** علاء ميكائيل***

الملخص

أُجريت هذه الدراسة في مخابر الهيئة العامة للطاقة الذرية في عام 2014 ، اختيرت سلالة نقية للخميرة *Kluyveromyces lactis* المتميزة باحتوائها على أنزيم بيتا غالاكتوزيداز والمعروفة بأهميتها في التطبيقات الغذائية والطبية والصيدلانية وتم إكثارها في وسط التخمر (راشح المصل)، حددت الشروط المثالية لنمو وإكثار الخميرة *Kluyveromyces.lactis* للحصول على البروتين الحيوي حيث بينت النتائج أن الشروط المثالية لنمو الخميرة على المصل منزوع البروتينات والدسم كانت كالتالي، تركيز سكر اللاكتوز (6.5%)، والأس الهيدروجيني pH (5)، ودرجة الحرارة المثالية (30°)س، وزمن التخمر المثالي (24 ساعة)، وفق عدد دورات في الحاضن الهزاز بلغ (350 دورة/دقيقة)، وبمعدل تهوية(PO_2) مثالية بلغ (8%). طبقت القيم المثالية للتخمر في المخمر الحيوي من نوع Electrolab وتم الحصول عل الكتلة الحيوية التي أجريت عليها عمليات التسخين بحرارة 75-90C° للحصول على البروتين الحيوي وحيد الخلية، ثم أجريت الاختبارات الكيميائية على العينات الست المأخوذة من المخمر، وكانت النتائج ضمن الحدود المسموح بها لمواصفات الـ FAO المنظمة الدولية للأغذية والزراعة، كما تم تقييم المنتج ميكروبياً، ودلت النتائج أنه ضمن الحدود المسموح بها للمواصفات المحلية والعالمية، كما أثبتت التحاليل خلو المنتج من العناصر السامة والمسرطنة، وأثبتت نتائج تحليل جودة البروتينات أنها عالية القيمة الغذائية.

الكلمات المفتاحية: البروتين الحيوي، المصل، *Kluyveromyces Lactis*، المخمر

---

* دكتور في علوم الأغذية.

** أستاذ في قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق.

*** مهندس في مديرية حماية المستهلك بدمشق.

Quality Indexes Evaluation of Biotical protein obtained from *Kluyveromyces. lactis* Yeast Proliferate on Sweet cheese whey permeate

Ibrahim Safita[*] **Samir. Slik**[**] **Alaa Mekaeel** [***]

Abstract

This study was conducted at the general organization for Atomic Energy laboratories in the year 2014, we used isolated *Kluyveromyces lactis* yeast, which has ß- galagtosidase enzyme and an important application in food, medicine and pharmacy ,then-the yeast has been Proliferate on Fermentation Medium it was included the non-protein and Fat Whey (permeate**)** by using Filtration for obtain Biotical protein, the results refers to The Optimizing proliferate conditions The Typical condition of properties of Yeast growth were identified for, Optimal growth and Bio Mass Production, So the Optimal Concentration of Fermentation Medium and pH were (6.5)% , (5), Respectively, the Optimal temperature was (30°c), the time of Fermentation was (24) hour ,and the Optimal speed of Shaker Incubator was (350) rpm and the typical average of aerator was(8%). The objective apply in the bio fermenter (electro lab) to obtain biomass heating pressing was conducted between (75-90 c°) for extraction The Biotical protein, which drying by drier (40c°) temperature, After that grinding it. The chemical analysis has been done on (6) samples of Biotical protein , and the results showed that canyon the licit break bounds Met all the Syrian special specification, and (FOA) specification. The microbial estimate results showed that canyon the licit break bounds Met (FOA) specification, the producer was avuncular from toxicity transurinium elements and carcinogen factors corroborated that by analysis, in other to the producer has high quality of proteins.

Keywords: Biotical protein, *Kluyveromyces lactis*, Whey, fermenter

[*] Dr. in Food Science P. O. Box. 30621, Damascus University, Syria.
[**] Prof., Dep. ,Food Sciences, Faculty of Agriculture Damascus University.
[***] Eng. In Customer Production Management.

المقدمة

إن فكرة استخدام الأحياء الدقيقة كمصدر للغذاء ليست بالفكرة الحديثة فقد أشارت المراجع ذات الصلة إلى أن استخدام الأحياء الدقيقة يعود إلى أكثر من 3100 سنة قبل الميلاد، وذلك من خلال استخدامها في صناعة الأجبان، والألبان والأحماض العضوية، وإنتاج الخميرة الغذائية، إن هذه الفكرة قد لا تروق للكثيرين من الناس، ولكنها وبالتأكيد وجدت كحل إبداعي وعبقري لسد الحاجات الغذائية المتزايدة لسكان الكرة الأرضية (Qiang وزملاؤه، 2009) . بدأ العلماء بالبحث عن مصادر غير تقليدية للبروتينات، ومنها إنتاج البروتين الحيوي وذلك بتنمية الكائنات الحية الدقيقة على المصادر الكربونية الزراعية (قشور الأرز، بقايا الذرة والشعير)، أو الصناعية (مولاس، إيتانول، مصل، مخلفات نفطية)، كمصدر أساسي لإنتاج البروتين الحيوي وحيد الخلية (Abdljabbar وزملاؤه ، 2008) .

عّرف البروتين الحيوي وحيد الخلية (SCP)، بأنه اصطلاح علمي اتفق فيه العلماء على تسمية خلايا البكتريا والفطور والخمائر والطحالب الجافة التي تم إكثارها على مخلفات زراعية أو صناعية ،ويكون ناتجها كتلة حيوية غنية بالبروتين سمي البروتين الحيوي وحيد الخلية SCP (Single-Cell Protein) ليدل على فكرة استخدم الأحياء الدقيقة كمادة، غذائية للإنسان استخدم هذا المصطلح لأول مرة عام 1966 من قبل البروفسور كارل ويلسون وذلك لتوضيح أن البروتين منتج بشكل ميكروبي ولتجنب فهم مصطلح أكل الأحياء الدقيقة(Nasseri وزملاؤه ،2011).تعتبر البروتينات الحيوية وحيدة الخلية من الأغذية غير التقليدية، و كانت الفكرة الأساسية لإنتاجها أواخر القرن الماضي هو مساعدة البلدان لسد جزء من الاحتياجات الغذائية البروتينية المتزايدة للإنسان، وقد ساهم التطور التكنولوجي الكبير وخاصة لدى شركة بريتش بتروليوم بجعل هذه الأبحاث ذات جدوى اقتصادية (اسماعيل،2004) .ينتج البروتين الحيوي من الأحياء الدقيقة بإكثارها على مجموعة كبيرة من الركائز، وتعتبر البكتريا عالية في إنتاجها للبروتين (50-65)%، ولها معدل نمو سريع ولكنها ذات حجم صغير وكثافة

منخفضة مما يجعل حصادها مكلفاً، وصعباً كما أن محتواها من الحمض النووي والمركبات البورينية عالٍ للغاية (Mellors وآخرون، 2010).

أما الخمائر فهي مناسبة لإنتاج البروتين بسبب النوعية البروتينية الجيدة حيث تصل إلى(45−55)% بروتيناً، كما أن حجم خلاياها كبير، وسهلة الحصاد وينخفض محتواها من الحمض النووي وذات محتوى عالٍ من الليزين ، وتنمو في الوسط الحمضي ومحتواها جيد من الميثونين مما يجعل البروتين المأخوذ منها مقارباً في فائدته للبروتين الحيواني، وقد نالت الخمائر قبولاً شعبياً بسبب التاريخ الطويل من الإستعمال التقليدي للخمائر في كثير من الصناعات الغذائية (Akram وآخرون، 2011) .

تعدّ خميرة *Kluyveromyces. lactis* من الخمائر المنتجة للبروتين الحيوي حيث أن البروتين منتجاً رئيسياً للعمليات الاستقلابية التي تقوم بها الخميرة لدى إكثارها على الأوساط المختلفة خلال مراحل النمو (Gerba وآخرون، 2002) و قد تزايد الاهتمام في الوقت الراهن بعمليات إكثار الخمائر التي تمتلك خاصية استقلاب سكر اللاكتوز فمن خلال دراسة الخصائص الفيزيولوجية، والبيوكيميائية للخمائر المستقلبة لسكر اللاكتوز ثبت أن الأنواع التابعة للجنس*Kluyveromyces*،مثل*K.lactis* لها القدرة على التمثيل الفعّال لسكر اللاكتوز مع إنتاج الكحول الإيتيلي، والبروتين الحيوي بكميات مناسبة (Rajoka، 2006).

وجد Ghaly وآخرون عام (2005) أن الإمكانيات البيولوجية لخميرة *K.lactis* ليست محدودة بإنتاجها للبروتين وحيد الخلية والذي استعمل كغذاء للرضع في ستينيات القرن الماضي بل تعداه إلى إنتاج الأغذية الوظيفية الـ(Fanctional Food) في الوقت الحالي كما استعملت الـ*K.lactis* لإنتاج مركبات النكهة، والحموض العضوية كحمض اللبن، كماواستعملت *K.lactis* كمضافات غذائية في العديد من الصناعات الغذائية المفيدة، ونظر لها كخميرة غذائية تنافس في أهميتها كلاً من خميرة *Saccharomyces cerevisiae*، وخميرة *Schizosaccharo* myces pormbe، (Colussi وآخرون، 2005).درس Merico وآخرون عام (2009) قدرة خميرة الـ K. lactisعلى النمو في

الظروف اللاهوائية وتبين من خلال الدراسة أن الخميرة قادرة على النشاط في هذه الظروف واستقلاب الغلوكوز بشكل أكبر وإنتاج الإيتانول والغليسرول كما يتباطئ معدل النمو في الظروف اللاهوائية.

أظهرت الأبحاث التي قام بها (Sisoو Doval،1994) أن الـK lactis تتموفي المجال الحراريْ بين 20° ~35°س ، والحرارة المثلى لنموها(28 c° ~ 30) ، ولا تنمو في درجات حرارية أعلى من.37c° ، وأوضحا أن وسط الحموضة المناسب لنمو الـ*K. lactis* هو (pH= 3.4 ~ 7.2).

تتحدد القيمة الغذائية للبروتين الحيوي بعدة عوامل بيوكيميائية كوجود العناصر الأساسية في الغذاء (سكريات ،دسم ، بروتينات) والفيتامينات والمعادن والحموض الأمينية والألياف تحتوي الخمائر على 45–55%بروتيناً،و2–6 % دسماً،و5– 9.5% رماداً و6– Mg/ml12 أحماض أمينية (Nasseri وآّخرون،2011).

قام Beausejouor و آّخرون عام (2009) بدراسة إنتاج البروتين الحيوي وحيد الخلية (SCP) على راشح مصل الجبن الناتج بالترشيح فوق العالي UFباستخدام خميرة الـ*Kluyveromyce smarxianus* بواسطة المخمر الحيوي بالطريقة المستمرة، والشروط الهوائية وتبين من خلال الدراسة أن أفضل إنتاجية للخميرة كانت على pH= 4.5 ودرجة حرارة ما بين 34-35 c° بإضافة كبريتات الأمونيوم كمصدر للآّزوت لزيادة الكتلة البروتينية.

درس Ghaly وآّخرون،(2004)، إكثار خميرة *K.fragilis* في المخمّر الحيوي بالطريقة المستمرة عند(pH = 3.9-5.1) و درجة حرارة بين (31-37) C° باستخدام الراشح المركز(اللاكتوز) وكان الناتج من الكتلة الحيوية حوالي % 53 من وزن اللاكتوز في المصل الأولي ويحوي المنتج % (45-50) بروتين وحيد الخلية و % (5-10) رطوبة ، هذا المنتج يمكن أن يستخدم صناعياً كغذاء أو عليقة للحيوانات لزيادة اللحم، أو كإضافات غذائية كما أنه يظهر تأثير جانبي منخفض لحمض اليوريك ومحتوى معادن و فيتامينات مرتفع .نظراً لما تمثله مشكلة تحقيق الأمن الغذائي، والتفكير بإيجاد

حلول مناسبة لها، وذلك من خلال إيجاد وارد غذائي بروتيني متجدد قادر على تلبية الاحتياجات الغذائية اليومية من البروتين وإنتاج غذاء آَمن، وصحي، وسليم يشكل قيمة مضافة بسبب إنتاجه على أوساط (ركائز) رخيصة ومتطلبات تكنولوجية متوفرة محلياً ، إضافة إلى إيجاد حلول جديدة وعصرية وجذرية لمشكلة التلوث البيئي الناجم عن إلقاء كميات هائلة من المصل في مجاري الصرف الصحي فقد هدف البحث إلى إنتاج و استخلاص وتجفيف البروتين الحيوي الناتج من الكتلة الحيوية لخمائر *Kluyveromyces.lactis*، ومن ثم قياس مؤشرات الجودة للبروتين الحيوي ، و تقييمه من الناحية الكيميائية والميكروبية والصحية.

المواد وطرائق العمل

المواد والأجهزة المستخدمة:

المصل الخام: مصل الجبن الحلو(تجبن أنزيمي)، المنفصل عن تصنيع الجبن العكاوي المستحصل عليه من شركات القطاع العام (ألبان دمشق) في فترة الدراسة، وقد طبقت عليه عملية التسخين(90−95) °*C*مع إضافة حمض الليمون ثم الترشيح اليدوي لفصل الدسم ، وذلك للحصول على وسط التخمر العام (المصل منزوع الدسم) وذلك بعد تصفية البروتينات المتخثرة.

وسط التخمر العام: المصل منزوع الدسم بعد التسخين وفصلت البروتينات المتخثرة بالتصفية، وقد تم تركيزه بالتبخير للحصول على راشح المصل الخالي من البروتينات، وأضيف له المواد المغذية التالية ليصبح أكثر ملاءمة لنمو الخميرة عليه وهي: كبريتات الأمونيوم$(NH_4)_2SO_4$ بمقدار (*0.3*)غ/100مل وكبريتات المغنزيوم $MgSO_4$ بمقدار 0.2 غ/100مل كعامل نمو وفوسفات ثنائية الأمونيوم $(NH4)_2Hpo_4$ بمقدار *0.2* غ/100مل وماءات الأمونيوم (NH_4OH) لتعديل الوسط بمقدار5مل/100مل(*Tiwari*وآخرون ،2011)، وبعد هذه الإضافات للمصل عُقم الراشح بالصاد الموصد على حرارة 121 °C وضغط 3 بار لمدة 15 دقيقة وحفظ على درجة حرارة البراد للتجارب اللاحقة.

- **البادىء النقي:** سلالة نقية للخميرة 42-*Kluyveromyces.lactis* .من قسم الهندسة الغذائية -كلية الهندسة الكيميائية والبترولية، والتي استقدمت من بنك السلالات في معهد الميكروبيولوجيا والفيزيولوجيا أكاديمية العلوم القومية الأوكرانية حيث تم إكثارها على وسط زرعي مناسب في أنابيب معقمة.

- **المخمر الحيوي:** تم إجراء تجارب إنتاج البروتين الحيوي بواسطة وحدة تخمير تجريبية (Bioreactor) نموذج (*electrolab*) (منشأالسويد) سعة 10 ليتر في مخابر هيئة الطاقة الذرية قسم البيوتكنولوجيا الجزيئية وفقاً للشروط المثالية لإنتاج البروتين الحيوي تركيز سكر اللاكتوز (6.5%) ، والأس الهيدروجيني *p*H (*5*) ، ودرجة الحرارة المثالية (30°)س، وزمن التخمر المثالي (*24* ساعة) ،وفق عدد دورات في الحاضن الهزاز بلغ (350 دورة/دقيقة)، وبمعدل تهوية(PO_2) مثالية بلغ (8%) والمخمر عبارة عن وعاء تخمير مصنوع من الزجاج مزدوج الجدار وذلك للتحكم بدرجة حرارة الوسط التخمري عن طريق تيار من الماء والمخمر مزود بالوحدات التالية :

وحدة التحكم بدرجة الحرارة :وذلك عن طريق الجدار المزدوج الموصول إلى ثرموستات حيث يتم التحكم بدرجة الحرارة حتى 60c° بدقة 0.1c°

وحدة التقليب والتحريك :عن طريق محور مزود بمراوح مناسبة للتقليب موصول بمحرك سرعته القصوى 1200(r.p.m) دورة/د.

وحدة التحكم بدرجة الـ*pH*: بدقة *0.01* درجة عن طريق مضخات معيارية تقوم بضخ وسط التعديل المناسب مع وجود الكترود خاص للضبط على الدرجة المناسبة.

وحدة التحكم بهوائية الوسط :عن طريق الكترود حساس خاص موضوع في وسط التخمير يمكن من خلاله التحكم بسرعة الدوران وفق انحلالية الأكسجين المحددة.

وحدة ضخ الهواء:وذلك عن طريق ضاغط هواء حتى *2* بار حيث يمكن التحكم بتدفقه.

- **جهاز الإمتصاص الذري** ماركة فاريان: لتقدير العناصر الثقيلة.
- **مثفلة (طاردة مركزية Scientific-Make -India)** لفصل الكتلة الحيوية من السائل المعلق المعامل بالتسخين الناتج عن التخمر

طرائق العمل:

- استخلاص البروتين الحيوي:

تم تعريض الكتلة الحيوية إلى التسخين السريع باستخدام البخار المضغوط إلى الدرجة 65C° −90C° ، للحصول على البروتين الحيوي، حيث يساعد التسخين السريع على قتل الخلايا وذلك بتحطيم الحموض النووية للخميرة بعدها تم فصل سائل التخمير واستخلاص الكتلة الحيوية بالمرشحات النابذة، إن تأثير كلاً من عمليتي التسخين والترشيح يخفض محتوى الـRNA في الكتلة الخلوية من 10%في خلايا البروتين الحيوي إلى 0.5 −2% في المنتج البروتيني من الوزن الجاف وفقاً (Wardوآخرون،1998).

أجريت على الكتلة الحيوية بعد الاستخلاص الإختبارات التالية

الإختبارات الكيميائية : وفقاًلـ(AOAC، 2002)

تحديد الرطوبة ، البروتين طريقة كلداهل (Kyeldahl method)، المواد الدسمة طريقة سوكسلت، تحديد الرماد.

تقدير العناصر الثقيلة (الرصاص، الكادميوم، الزرنيخ، النحاس):(AOAC، 2002).

اختبارات جودة البروتين الحيوي: تتضمن الإختبارات التي أجريت على البروتين الحيوي تقييم نوعية البروتينات المتعددة باختبارات التغذية وهي تحديد معامل قابلية الهضم (TD) ،القيمة الحيوية(BV)،فائدة البروتين الصافي(NPU)، ،ونسبة فعالية البروتين(PER)، لتحديد إمكانية استعمال البروتين الحيوي في الأغذية اعتماداً على الحيوانات المخبرية وقــد أجريت الإختبـــــارات على فئران التجارب من نوع هامستر البيضـاء (ذكور وإناث) عمر25يوم في مديـرية الصـحة الحيوانية بدمشـق قسم تأثير الأدوية وفقاً لـ (Arora وآخرون، 1991).

القيمة الحيوية BV)Biological Value): تعبرعن كمية البروتين مقدرة بالغرام المتشكلة بالجسم من جراء تناول 100غ غذاء بروتيني، وتمثل القيمة الحيوية نسبة الآزوت المحتبس في حيوانات التجربة على قيمة الآزوت الممتص من قبل الحيوانات.

$$BV = \frac{\text{الآزوت المحتبس}}{\text{الآزوت الممتص}} \times 100$$

حيث أن المحتبس = المدخل – (المطروح بالبول + المطروح بالبراز)

الممتص = المدخل – المطروح بالبراز

$$BV = \frac{Nd - (Nf + Nu)}{Nd - Nf} \times 100$$

Nf:الآزوت المطروح في البراز

Nu:الآزوت المطروح في البول

Nd:الآزوت المدخل مع الغذاء

- معامل الهضم (TD)Total Digestive:

يمثل معامل الهضم نسبة الآزوت الممتص من قبل حيوانات التجربة على نسبة الآزوت المدخل مع الغذاء.

$$TD = \frac{\text{الآزوت الممتص}}{\text{الآزوت المدخل}} \times 100$$

$$TD = \frac{(Nd - Nf)}{Nd} \times 100$$

– فائدة البروتين الصافي:(NPU)Net Protein Utilization):

تمثل النسبة بين البروتين المتناول في الغذاء والبروتين المطروح على شكل صلب (براز)،و تعتمد على حيوانات التجربة وتعد فائدة البروتين الصافي اختباراً هاماً لتقدير جودة البروتينات وهي تمثل قيمة معامل الهضم مضروباً بالقيمة الحيوية ويتم حسابه وفقاً للمعادلة التالية:

NPU= المحتبس/الممتص × الممتص/المدخل = المحتبس/المدخل

$$\text{NPU} = \text{BV} \times \text{TD}$$

$$\text{NPU} = \frac{Nd-(Nf+Nu)}{Nd-Nf} \times \frac{(Nd-Nf)}{Nd} \times 100$$

$$\text{NPU} = \frac{Nd-(Nf+Nu)}{Nd} \times 100$$

- **نسبة فعالية البروتين:**Protien Efficiency Ratio (PER)
وهو من أدلة النمو ويعبر عن الربح في الوزن لكل غرام بروتين مغزى به الحيوان.
طريقة العمل: توضع حيوانات التجربة في أقفاص معزولة وتزود بالماء كما تريد ، ويسجل وزن كل حيوان في بداية الفحص كما يقاس وزن الجسم والطعام المدخل في فترات منتظمة خلال مدة
الفحص (28) يوماً.
ويحسب الـ PER على أساس ربح الوزن لكل غرام بروتين مغذى به الحيوان تؤخذ حيوانات التجربة بعمر 21-28 يوماً وتغذى بحمية غذائية تحوي 10%بروتين على مجموعتين كل مجموعة 10 حيوانات
المجموعة الأولى: تغذى بحمية تحوي على الكازئين المرجعي (شاهد)
المجموعة الثانية: تغذى بحمية تحوي على البروتين المفحوص وتكون جودة البروتين المفحوص أفضل كلما كان نمو الحيوانات أسرع وتحسب النتائج من المعادلة التالية:

$$PER = \frac{\text{الربح في الوزن للحيوانات المغذاة بالبروتين} - \text{الربح في الوزن للحيوانات المغذاة بالكازئين}}{\text{البروتين المدخل}}$$

- **الإختبارات الميكروبية:**
أُجريت الإختبارات الميكروبية التالية على البروتين الحيوي الناتج على الشكل التالي : تعداد عام ، تعداد الكوليفورم ، تعداد الخمائر والفطور (Yousef وCarlstrom، 2003) وذلك باستخدام الأوساط المناسبة.
- **الأوساط المستخدمة:**
- وسط الآغار المغذي Nutrient Agar :تم استخدامه لإحصاء التعداد العام للجراثيم الهوائية حيث يتم التحضين على درجة 37c° ولمدة 48 ساعة.
(Yousef وCarlstrom،2003)

– وسط الآغار البنفسجي الأحمر والأصفر Violet Red bile Agar : يستخدم لإنماء بكتيريا الكوليفورم حيث يتم التحضين على درجة 37c° ولمدة 24 ساعة.
(Yousefو Carlstrom، 2003)

– وسط دكستروز البطاطا Potato Dextrose Agar: يستخدم لإنماء الفطور والخمائر على درجة حرارة 25c° ولمدة 3 أيام (Yousefو Carlstrom، 2003).

جُففت الكتلة الحيوية تحت التفريغ حيث تتعرض الخلايا لعملية التجفيف للتخلص من االرطوبة

– التحليل الإحصائي:

استخدم تصميم القطاعات العشوائية الكاملة بالنسبة لتحليل نتائج الإختبارات للبروتين الحيوي وفقاً لما يلي:

1. أجريت جميع التحاليل بثلاث مكررات وسجلت النتائج كمتوسطات ± الانحراف المعياري.

اجري اختبار التوزع الطبيعي Test for Normality باستخدام اختبار Anderson-Darling Test و اجري اختبار تحليل التباين (ANOVA) باستخدام طريقة General Linear Model ثم تبعت باختبار Tukey لتحديد الفروق المعنوية بين المتوسطات على مستوى ثقة 5% ($p \leq 0.05$).

2. أُجريت جميع التحاليل الإحصائية السابقة باستخدام برنامج Minitab 14 software package (Minitab Inc., USA)

النتائج والمناقشة:

الاختبارات الكيميائية للمصل الخام:

أظهرت نتائج تحليل المصل الخام المستخدم الجدول (2). في خاصية الحموضة القلوية المعايرة مقدرة كحمض لبن، وتحليل اللاكتوز والمادة الجافة والبروتين والدسم أنها ضمن الحدود الطبيعية للمواصفة السورية الخاصة ، كما أن إرتفاع الحموضة القلوية المعايرة عائد لوجود البكتريا اللبنية في المصل وعدم بسترة الحليب المخصص لصناعة الجبن

كما أن الإرتفاع الطفيف لنسبة البروتين تم تفسيره بالمعاملة الميكانيكية القاسية ا التي تعرضت لها خثرة الجبن أثناء صناعته والتي أدت إلى انتقال جزء منها إلى المصل بما يتوافق مع (Thomet وآخرون،2005).

الجدول (2) التركيب الكيميائي للمصل الخام

المصل الخام	الحموضة حمض لبن%	اللاكتوز %	المادة الصلبة %	البروتين %	الدسم %
عينة1	**0.02±0.24[a]**	**0.03±4.54[a]**	**0.3±5.9[b]**	**0.02±0.9[b]**	**0.01±0.4[a]**
عينة2	**0.01±0.22[a]**	**0.04±4.53[a]**	**0.1±6.1[a]**	**0.01±0.9[b]**	**0.03±0.6[b]**
عينة3	**0.03±0.21[a]**	**0.02±4.55[a]**	**0.2±6.4[a]**	**0.02±1.01[a]**	**0.03±0.6[b]**
عينة4	**0.01±0.19[b]**	**0.03±4.46[b]**	**0.3±6.2[a]**	**0.01±0.9[b]**	**0.04±0.5[a]**
عينة5	**0.01±0.18[b]**	**0.03±4.58[a]**	**0.1±5.8[b]**	**0.02±0.8[c]**	**0.03±0.4[a]**
عينة6	**0.03±0.21[a]**	**0.04±4.47[b]**	**0.2±6.3[a]**	**0.03±1.03[a]**	**0.02±0.5[a]**

*** كل قراءة هي المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات، والأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (P ≤0.05).**

الاختبارات الكيميائية لراشح المصل:

أظهرت نتائج تحليل الاختبارات الكيميائية لراشح المصل منزوع الدسم الجدول (3). في خاصية الحموضة القلوية المعايرة مقدرة كحمض لبن وتحليل اللاكتوز والمادة الجافة والبروتين والدسم أنها ضمن الحدود الطبيعية للمواصفة السورية الخاصة بمساحيق مصل الحليب رقم.2537 .لعام 2002

الجدول (3) التركيب الكيميائي للمصل منزوع الدسم والبروتين

المصل الخام	الحموضة حمض لبن%	اللاكتوز %	المادة الصلبة %	البروتين %	الدسم %
عينة1	0.021±0.18[a]	0.1±4.55[a]	0.3±4.81[a]	0.001±0.2[a]	0.001±0.01[a]
عينة2	0.031±0.21[a]	0.2±4.54[a]	0.1±4.72[a]	0.002±0.1[a]	0.002±0.02[a]
عينة3	0.011±0.19[a]	0.2±4.53[a]	0.2±4.90[a]	0.002±0.2[a]	0.003±0.01[a]
عينة4	0.016±0.19[a]	0.1±4.48[a]	0.1±4.82[a]	0.001±0.2[a]	0.001±0.02[a]
عينة5	0.021±0.18[a]	0.2±4.58[a]	0.1±4.78[a]	0.002±0.1[a]	0.003±0.01[a]
عينة6	0.014±0.21[a]	0.1±4.47[a]	0.3±4.83[a]	0.001±0.1[a]	0.002±0.02[a]

* كل قراءة هي المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات، والأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (P ≤0.05).

*** الاختبارات الكيميائية للبروتين الحيوي:**

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي الجدول (4) وجود فرق معنوي في نسبة المادة الجافة بين المتوسطات على مستوى معنوية (P≤ 0.05) لعينات البروتين الحيوي، وتراوحت نسبتها بين (61.70) للعينة (1) وبين (64.70) في العينة (6) ، وهي ضمن النسب المسموحة، والمصرح بها من قبل منظمة الأغذية، والزراعة FAOالتي تتراوح بين (60–80)% لبروتينات الخمائر.

دلت النتائج الإحصائية للنسبة المئوية للبروتين في المادة الجافة إلى وجود فرق معنوي على مستوى معنوية (P< 0.05) بين المتوسطات لصالح الزيادة في نسبة البروتين حيث تراوحت نسبة بروتين في المادة الجافة (47.12) العينة (1) أعلى نسبة، وبين (43.74) العينة (5) وجميع العينات ضمن النسب المسموحة والمصرح بها من قبل منظمة الأغذية والزراعة FAO التي تتراوح بين (45–55)% لبروتينات الخمائر من المادة الجافة، وقدتم تفسير النتائج باحتواء خميرة *Klyveromyces lactis* على أنزيم بيتا غالاكتوزيداز، ونجاح سير عملية التخمر ضمن الظروف التي وجدت بها الخميرة وقيام الأنزيم بنشاطه الذي أدى إلى تحويل نسبة مرتفعة من الوسط إلى بروتينات حيث أن الهدف الأساسي للعملية هو إنتاج البروتين الحيوي (Neri وزملاؤه

كما دلت نتائج التحليل لنسبة الدسم في البروتين وحيد الخلية إلى وجود فرق معنوي بين المتوسطات على مستوى معنوية (P< 0.05) حيث تراوحت بين (3.67) العينة (3) و(4.42) (العينة 4)، وجميع العينات ضمن النسب المسموحة والمصرح بها من قبل منظمة الأغذية والزراعة FAO التي تتراوح بين (2–6)% لنسبة الدسم في بروتينات الخمائر،وقدتم تفسير النتائج باحتواء الوسط على نسبة ضئيلة من الدسم تنتقل إلى الكتلة الحيوية وتتركز أثناء الطرد المركزي للكتلة الحيوية والحصول على البروتين الحيوي بالإضافة لمجموعة التفاعلات الخلوية التي ينتج منها كميات قليلة من الدسم.

أما في نسبة الرماد فقد أشارت النتائج إلى عدم وجود فرق معنوي على مستوى معنوية (P≤0.05) لجميع عينات البروتين المحللة وبالتالي لا يمكن تفضيل أي عينة عن

الأخرى وهي ضمن النسب المسموحة والمصرح بها من قبل منظمة الأغذية والزراعة FAO التي تتراوح بين (5- 9.5)% لنسبة الرماد في بروتينات الخمائر،وقدتم تفسير النتائج في ضوء المقادير من العناصر المعدنية التي تمت إضافتها إلى المصل لتدعيمه بالعناصر المغذية لنمو وإكثار الخمائر ،(كبريتات الأمونيوم ، كبريتات المغنزيوم، فوسفات ثنائية الأمونيوم).

الجدول (4) التحليل الكيميائي للبروتين الحيوي

العينات	المادة الجافة %	البروتين في المادة الجافة %	الدسم %	الرماد %
1	$0.26±61.70^{a,b}$	$0.14±47.12^{c}$	$0.06±4.17^{a,b}$	$0.06±4.98^{a}$
2	$0.30±62.93^{b,c}$	$0.04±46.21^{a,c}$	$0.02±4.20^{a,b}$	$0.09±4.85^{a}$
3	$0.30±63.83^{c}$	$0.07±43.96^{b}$	$0.06±3.67^{b}$	$0.02±4.91^{a}$
4	$0.35±62.67^{b,c}$	$0.06±46.23^{a,c}$	$0.05±4.42^{a}$	$0.03±5.16^{a}$
5	$0.25±60.97^{a}$	$0.11±43.74^{b}$	$0.06±4.22^{a,b}$	$0.04±4.83^{a}$
6	$0.15±64.40^{d}$	$0.09±45.83^{a,b}$	$0.03±4.15^{a,b}$	$0.14±4.96^{a}$

*** كل قراءة هي المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات، والأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (P ≤0.05).**

الاختبارات الميكروبية للبروتين الحيوي:

تشير النتائج للتحليل الإحصائي لهذه الاختبارات الجدول (5) إلى عدم وجود فرق معنوي بين متوسطات العينات على مستوى معنوية (P ≤0.01) في التعداد العام للأحياء الدقيقة بين العينات وبناءً على ذلك لا يمكن تفضيل أي عينة عن الأخرى كما دلت النتائج على أن جميع العينات ضمن الحدود الطبيعية لتعداد الأحياء الدقيقة حسب منظمة الفاوFAO والتي لا تسمح بوجود أكثر من 10^5 خلية/غ في البروتيات المجففة بما يتوافق مع (Nasseri وآخرون،2011).وتم تفسير ذلك بتعرض الكتلة الحيوية إلى التسخين لدرجة حرارة (75-90)°C , والتي كانت جيدة وكافية للقضاء على الخلايا الخضرية للأحياء الدقيقة، ولكنها لم تكن كافية للقضاء على أبواغها بالإضافة لذلك كان للتجفيف المكشوف للبروتين الحيوي أثر كبير في زيادة نسبة الأحياء الدقيقة، وبالتالي زيادة التعداد الكلي للأحياء الدقيقة ،كما أن الظروف لم تكن مناسبة لزيادتها بشكل

مضطرد.كما دلت النتائج بالنسبة لجراثيم الكوليفورم على عدم وجود فرق معنوي في تعدادها بين متوسطات العينات على مستوى معنوية ($P \leq 0.01$) وبناءً عليه لا يمكن تفضيل أي عينة عن الأخرى كما دلت النتائج على أن جميع العينات ضمن الحدود الطبيعية لتعداد الكوليفورم حسب منظمةFAO والذي يجب ألا يتجاوز (10^3)/غ وقد عُزي الأمرإلى نظافة الماء المستخدم في عملية غسل البروتين الحيوي، وإلى عدم توفر الظروف الملائمة لنشاط بكتريا الكوليفورم.أما بالنسبة لتعداد الخمائر فهي أيضاً ضمن الحدود الطبيعية لمواصفات منظمة الفاوFAO البالغ

(5×10^1) خليـة/غ، ولا يوجـد فـرق معنـوي علـى مسـتوى معنويـة ($P \leq 0.01$) بـين المتوسطات وبذلك لا يمكن تفضيل أي عينة على الأخرى وقد تم تفسير وجود الخمائر في البروتين هو تعرضـه للتجفيف المكشوف بعد تعرضـه للمعاملـة الحرارية لتقليل نسبة الأحماض النووية ثم نقله مكشوفاً من وعاء إلى أخر في ظروف غير عقيمة (Neri وآخرون،2008).

الجدول (5) نتائج التحليل الميكروبي للبروتين الحيوي

البروتين الحيوي	التعداد العام خلية/غ مع الحساب الإحصائي لوغاريتمياً		الكوليفورم خلية/غ مع الحساب الإحصائي لوغاريتمياً		الخمائر خلية/غ مع الحساب الإحصائي لوغاريتمياً	
1	$10^3\times2.25$	0.01 ± 3.35^a	$10^2\times1.6$	0.02 ± 2.21^a	$10^1\times3.0$	0.05 ± 1.48^a
2	$10^3\times2.14$	0.02 ± 3.32^a	$10^2\times2.2$	0.05 ± 2.34^a	$10^1\times2.0$	0.03 ± 1.30^a
3	$10^3\times2.18$	0.01 ± 3.33^a	$10^2\times1.7$	0.03 ± 2.23^a	$10^1\times2.0$	0.03 ± 1.30^a
4	$10^3\times2.22$	0.01 ± 3.34^a	$10^2\times1.9$	0.03 ± 2.28^a	$10^1\times3.0$	0.05 ± 1.48^a
5	$10^3\times2.17$	0.01 ± 3.33^a	$10^2\times1.5$	0.02 ± 2.18^a	$10^1\times2.0$	0.03 ± 1.30^a
6	$10^3\times2.22$	0.01 ± 3.34^a	$10^2\times1.7$	0.03 ± 2.23^a	$10^1\times4.0$	0.05 ± 1.60^a

*** كل قراءة هي المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات، والأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية على مستوى معنوية ($P \leq 0.01$).**

العناصر الثقيلة في البروتين الحيوي:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لنسب المعادن الثقيلة في البروتين الحيوي الجدول (6) وإلى خلو البروتين من عنصر النحاس المسبب للأمراض والسرطانات بشكل تام ولجميع العينات، علماً أن النسب المسموح بها حسب FAO (5) ppm جزء بالمليون، أما بالنسبة لعنصر الرصاص فقد وجد فرق معنوي بين متوسطات العينات على مستوى معنوية ($p < 0.05$)، وكانت العينة (2) أفضل العينات، حيث بلغت نسبة الرصاص(0.13) ppm وهذه النسبة أدنى من الحدود المسموح بها في المواصفات المحلية، والعالمية لمثل هذا النوع من المنتجات ،كما أنها ضمن الحد المسموح بها لمنظمةFAO والتي لا تسمح أن يتجاوز عنصر الرصاص (2) ppm (جزء في المليون) في البروتينات المجففة الميكروبية، وقد تم تفسير وجود الرصاص بانتقاله من الأدوات والأواني وتعود النسبة المتدنية من الرصاص إلى نظافة وسط التخمير العام (راشح المصل) كونه وسط غذائي. أما بالنسبة لعنصر الكادميوم فقد تراوحت نسبته بين (0.10)ppm في العينة (3) و(0.33) ppm للعينة (5) ووجود الفرق المعنوي لصالح العينة (3) علما أن جميع العينات ضمن الحد المسموح بها من قبل منظمة الـ FAO والبالغ (1) ppm، وفسر وجود الكادميوم في البروتين الحيوي بانتقاله من المعدات والأدوات المستخدمة، أما نسبة الزرنيخ فقد تراوحت بين (0.04)ppm في العينة (6)، وبين (0.01)ppm (2) علما أن جميع العينات ضمن الحدود المسموح بها من قبل منظمة الـ FAO ومنظمة الصحة العالمية WHO والتي سمحت بتواجد (1) ppm في البروتينات الميكروبية المجففة، ويفسر وجود الزرنيخ بانتقاله من الجو الملوث والمبيدات والعليقة المستخدمة في تغذية الحيوانات (Neri وآخرون،2008).

الجدول (6)المعادن الثقيلة للبروتين الحيوي

النحاس Cu ملغ/كغ ppm	الزرنيخ As ملغ/كغ ppm	الكادميوم Cd ملغ/كغ ppm	الرصاص Pb ملغ/كغ ppm	البروتين الحيوي
-	0.01±0.02[a]	0.12±0.17[a,c]	0.10±0.15[b]	1
-	0.01±0.01[a]	0.21±0.13[c]	0.10±0.13[a]	2
-	0.01±0.04[b]	0.10±0.10[c]	0.12±0.17[c]	3
-	0.01±0.02[a]	0.10±0.20[a,b]	0.15±0.19[c]	4
-	0.01±0.03[a,b]	0.10±0.33[c]	0.12±0.17[c]	5
-	0.01±0.04[b]	0.10±0.16[a,b]	0.10±0.16[c]	6

*** كل قراءة هي المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات، والأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية على مستوى معنوية (P≤0.05).**

نتائج تقييم جودة البروتين الحيوي:

تشير نتائج التحليل الإحصائي الجدول (7) لتقييم جودة البروتين بالنسبة لمعامل الهضم الكلي (TD) إلى وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية (P ≤0.05) حيث تراوح الفرق بين المتوسطات بين (65.25) للعينة (3) إلى (70.21) في العينة (5) و حيث أن معامل الهضم يمثل نسبة الآزوت الممتص من قبل حيوانات التجربة على نسبة الآزوت المدخل مع الغذاء فهو يعد من الأغذية الجيدة والتي يستطيع الجسم على الإستفادة منها ومجمل العينات ضمن الحدود الطبيعية المسموح بها من قبل منظمة FAO، كما أظهرت النتائج بالنسب المئوية للقيمة الحيوية BV وجود فرق معنوي بين المتوسطات على مستوى معنوية (P ≤0.05) حيث بلغ أعلى متوسط للعينة (5) وهو (76.52)، وأقل متوسط للعينة (3) وهو(65.90) تدل النتائج أن البروتين الحيوي من الأغذية عالية القيمة الغذائية، وذلك لتشكل ما مقداره 0.76 غ من البروتين في الجسم جراء تناول 100غ من البروتين الحيوي ،وحيث أن بروتين البيض يمثل القيمة المرجعية للقيمة الحيوية والتي تقدربـ100 وذلك حسب منظمة الـFAO لذا تشكل العينة (5) الأفضل في القيمة الحيوية علماً أن جميع العينات ضمن المدى المسموح به في المواصفات القياسية لمنظمة FAO، أما بالنسبة لفائدة البروتين الصافي NPU فقد

أشارت النتائج إلى وجود فرق معنوي بالإرتفاع على مستوى معنوية ($0.05 \geq P$) بين متوسطات العينات ، وتراوحت بين (41.54) للعينة (2) وبين (53.72) في العينة (5) ،وهذا يدل على كون البروتين من الأغذية الجيدة ونسبته قريبة جداً من النسبة الموجودة في القمح (41%) والرز(57%) وجميع العينات ضمن المدى المسموح به في المواصفات القياسية الخاصة لمنظمة الأغذية والزراعة الـ FAO .

كما دلت نتائج التحليل الإحصائي لنسبة فعالية البروتين PER على وجود فرق معنوي بالإرتفاع

بين نسب متوسطات العينات على مستوى معنوية ($0.05 \geq P$) فتراوحت النسب بين (2.01) للعينة (6)، وبين (2.35) في العينة (1) وجميع العينات ضمن المجال المسموح للمواصفات القياسية لمنظمة الـ FAO،وقريبة من قيم بروتينات فول الصويا ولحم الأبقار وكازيئينات الحليب حسب FAO.(Neri وآخرون،2008).

الجدول (7) نتائج تقييم جودة البروتين الحيوي

البروتين الحيوي	معامل الهضم الكلي %TD	القيمة الحيوية %BV	فائدة البروتين الصافي %NPU	نسبة فعالية البروتينPER
1	0.29 ± 68.99^{b}	$0.69 \pm 73.59^{b,c}$	0.54 ± 50.77^{c}	$0.21 \pm 2.35^{a,b}$
2	$0.41 \pm 67.21^{a,b}$	0.74 ± 72.29^{b}	0.95 ± 41.54^{c}	0.11 ± 2.09^{a}
3	0.46 ± 65.25^{a}	0.49 ± 65.90^{a}	0.85 ± 42.99^{d}	$0.15 \pm 2.33^{a,b}$
4	1.08 ± 68.15^{b}	0.62 ± 71.45^{b}	0.89 ± 48.69^{c}	0.16 ± 2.12^{a}
5	0.29 ± 70.21^{c}	0.79 ± 76.52^{e}	1.15 ± 53.72^{c}	$0.25 \pm 2.33^{a,b}$
6	$0.81 \pm 67.23^{a,b}$	$0.69 \pm 73.61^{b,c}$	0.98 ± 49.48^{e}	0.08 ± 2.01^{a}

* **كل قراءة هي المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات، والأرقام التي تحمل أحرفاً متشابهة في العمود الواحد لا يوجد بينها فروق معنوية على مستوى معنوية ($0.05 \geq P$).**

الإستنتاجات:

1-أكدت دراسة مؤشرات الجودة للبروتين الحيوي الناتج من خميرة *Kluyveromyces lactis* المنماة على راشح المصل المدعم بالعناصر المغذية أنه من البروتينات ذات الجودة العالية المرتفعة القيمة الغذائية، وذو نسبة منخفضة من العناصر المعدنية.

2- أثبتت الإختبارات الميكروبية للبروتين الحيوي أن محتواه من البكتيريا ، والخمائر ضمن الحدود المسموح بتواجدها في البروتينات بحسب منظمة الـــFAO والمواصفة العالمية الخاصة .

التوصيات:

1-الاستفادة من مصل الجبن، واللاكتوز الموجود فيها كركائز لتنمية الأحياء الدقيقة والحصول على منتجات عالية الجودة الغذائية مثل البروتين الحيوي.

2- الاستفادة من البروتين الحيوي في تدعيم الأغذية.

المراجع

– اسماعيل، صلاح حامد. 2004.الأعلاف غير التقليدية في تغذية الحيوانات والدواجن–الدار العربية للنشر – الطبعة الثانية. جمهورية مصر العربية.

– المواصفة القياسية السورية الخاصة،. 2002. مساحيق مصل الحليب، الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس ، وزارة الصناعة ، دمشق، الجمهورية العربية السورية رقم. 2537.

– المواصفة القياسية السورية.. 2000. الاشتراطات الخاصة بالأحياء الدقيقة الواجب تحققها في المنتجات الغذائية، الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس ، دمشق، الجمهورية العربية السورية رقم.2179.

−Abdljabbar, Ahmed.H, R. Shahazad, J. Raouf ,S .Alhelu. 2008. petroleum single cell protein production, engineering and technology .Journal.27.(3):126-143.

−Akram ,T., H. AL-Rawi Nadia, H. Selman Aswan., A. AL-Bayar. 2011.Yeast extracts production from Whey by utilization of local isolate *Kluyveromyces marxianus*.J. Biotechnol. Sci, Vol5,n o2, College of Agriculture/ Baghdad University.

-.A.O.A.C 2002 - Official Methods of Analysis 15th ed. Assocation of official Analytical Chemists ,published by the Association of official Analytical Chemists ,Inc. USA.

−Arora, D., Mukerji, K. & Marth, E. 1991.Single cell protein in Hand book of applied mycology India: Banaras Hind University .(vol. 3). (pp. 499-539).

–Beausejour, D.; Leduy, A. and Ramaiho, R.S. 2009.Batch cultivation of *Kluyveromyces fragilis* in cheese whey. Chem. Eng., 59 (4): 522-526.

–Becerra M, Prado SD, Siso MI & Cerdan ME .2001. New secretory strategies for *Kluyveromyces lactis* beta-galactosidase. Protein Eng 14: 379–386.

–Becker, E.W. 2007. Micro-algae as a source of protein. Biotechnol. Cambridge University Press, Cambridge, UK Adv., 25: 207-210.

– Colussi, P.A., Specht, C.A., and Taron, C.H. 2005. Characterization of a nucleus-encoded chitinase from the yeast. *Kluyveromyces* Lactis *Appl Environ. Microbiol.* 71:2862-9.
– Gerba , S., Stehlik , V.,Stanzer , D., and Skrlin , A. 2002. Selection of Yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and biomass Production on whey. Chemical and Biochemical Engineering Quartery. 16 : 13-16 .
–Ghaly,A.E.; Kamal,M. and Avery.A. 2004. Influence of temperature rise onKinetic parameters during batch propagation of Kluyveromyces Fragillss in Chesse whey under ambient condition. Journal Microbiol .Biotechnology. 19(7):741-749.
–Ghaly,A.E.; Kamal,M. and Corveia, L.R.; .2005. Kinetic Modeling of Continuous submerged fermentation of chess whey for Single Cell Protein Production , Bioresours Technology.96(10):1143-1152.
−Mellors JS, Jorabchi K, Smith LM, Ramsey JM.2010. Integrated microfluidic device for automated single cell analysis using electrophoretic separation and electrospray ionization mass spectrometry. Anal Chem, 82:967-973.
–Merico, A. Galafassi, S. Piskur, J. Compagno, C. 2009. The oxygen level determines the fermentation pattern in *Kluyveromyces lactis*, Electronic Table of Contents (ETOC) (United Kingdom). -Lee, Y.J.,C.S. Kim and D.K.Oh.2004.Lactulos Production by ß-galactosid –ase in Permeabilized cells of *Kluyveromyces lactis*. Applied Microbiol Biotechnology. 77-93.
−Nasseri .A.T, Rasoul-Amini.S, Morowvat.M.H.; and Y. Ghasemi.Y, .2011. Single Cell Protein: Production and Process. *American Journal of Food* Technology, 6: 103-116.
Neri , D. F.M. Balco, V. M.; Carneiro-da-Cunh, M. G. ; Carvalho Jr., L. B. and Teixeira, J. A. 2008. Immobilization of β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis* onto a polysiloxane polyvinyl alcohol magnetic *composite for lactose hydrolysis.* Catalysis.p:134-157.
– Qiang He, peter M.Lokken, Si Chen and Jizhong Zhou.2009.
Characterization of the impact of acetate and lactate on ethanolic
Fermention by *thermoanaerobacter ethanolicus* ,Bioresource Techno-
Logey Volume 100,Issue23,December,page 5955-5965.
– Rajoka,M.I., Khan, S.H.; Jabber,M.A.;Awan,M.S. and Hashmi,A.S. 2006.Kinetics of batch Single Cell Protein production from rice polishing

with*Candida utilis* in continuously aerated tank reactors Bioresource Technol ,97(15):1934-1941.
–Siso Mig and Doval S.S. 1994. *Kluyveromyces lactis* immobilization on Corn Grits for milk whey lactose hydrolysis // Enzyme and Microbial Technology. 16 (4) P: 303-310.
-Thomet, A.; Bachmann, H.P.; Schafroth, K.2005. Raclette cheese with whey proteins - innovative and economical, Agrarforschung (Switzerland). 11(7) p. 304-309
–Tiwari, K., Jadhav, S. & Tiwari, S., 2011. Studies of Bioethanol Production from Some Carbohydrate Sources by Gram Positive Bacteria. *Journal of Sustainable Energy & Environment* 2**,** 141-144.
–Ward, O. P. John Wiley and Sons P.N . 1998.Biomass production, Production of food planet . In *Fermentation Biotechnology*. Chap. 6,p. 91-101., Chichester.
–Yousef, A.E., and Carlstrom,C. 2003. Food Microbiology. By Jhon Wiley and Sons,Inc.p:454-467.

تاريخ ورود البحث:2017/2/8
تاريخ قبول البحث:2017/4/4