شكروتقديـــــــــــر

الحمد لله رب العالمين ,المتفضل علينا بالهداية والعناية والتمكين, والمنعم على عباده بكل خير وسعادة ليكونوا صالحين , والصلاة والسلام على المبعوث رحمة للعالمين سيدنا محمد ,ناصر المستضعفين والمظلومين والرضا والرضوان على آله وأصحابه الميامين وعلى من تبعهم بإحسان وسار على هديهم من الأولين والآخرين إلى قيام يوم الدين.

لا يسعني وأنا أختم أطروحتي هذه بفضل من الله عز وجل إلا أن أتقدم بخالص شكري وعظيم امتناني إلى أستاذي المشرف الأستاذ الدكتور سمير سليق و الأستاذ الدكتور أحمد هدَال المشرف المشارك اللذان شرفاني بإشرافهما على هذه الأطروحة واللذان أمداني بخبرتهما العلمية والإجتماعية لهما مني كل الاحترام والتبجيل والشكر موصول إلى عمادة كلية الزراعة على رأسهم الأستاذ الدكتور محمد أيمن السعدي عميدالكلية وكل الأساتذة في قسم علوم الأغذية على نصائحم واهتمامهم وتعاونهم معي خلال دراستي كما لا يفوتني أن أتوجه بالشكر الجزيل للهيئة العامة للتقانة الحيوية ممثلة بمديرها العام الأستاذ الدكتور عصام قاسم والدكتورة لينا الأمير رئيسة قسم التقانات الحيوية الغذائية والعاملين جميعاً فيها وأتوجه بشكري وموفور امتناني إلى العاملين في الهيئة العامة للطاقة الذرية وعلى رأسهم المدير العا م الأستاذ الدكتور إبراهيم عثمان والأستاذ الدكتور نزار المير علي والدكتور ياسر بكري والشكر موصول للعاملين في مديرية الصحة الحيوانية بوزارة الزراعة وأخص الدكتور مازن ديب والمهندس عصام الناجي وشكري الجزيل للهيئة العامة للبحوث الزراعية وأخص الدكتور غياث ديوب ووافر امتناني للأستاذ نزار إدلبي من قسم علوم التربة لما قدم هـ الجميع من مساعدات لإخراج البحث على الوجه الأكمل وإلى كل من ساعد وساهم في البحث لهم مني كل المودة والوفاء.

تصـــــــــــــــــريح

نصرح بأن البحث الموصوف في هذه الأطروحة تحت عنوان :

إنتاج واستخلاص البروتين وحيد الخلية **(SCP) واستخدامه في صناعة اللبنة والجبنة القابلة للمد**

لم يسبق تقديمه للحصول على أية درجة جامعية أخرى ,وغير مقدم حالياً لذلك، وإن كافة الأعمال والنتائج المذكورة هي جهودي الشخصية ,وبتوجيه من المشرفين العلميين الأستاذ الدكتور سمير سليق و الأستاذ الدكتور أحمد هدّال وأية معلومات أو نتائج أخرى ذكرت في الأطروحة قد نسبت إلى مصادرها ومؤلفيها في النص، وفي قائمة المراجع .

الأستاذ المشرف	**المشرف المشارك**	**المرشح**
أ.د.سميرسليق	أ.د.أحمدهدال	م. إبراهيم صافيتا

Declaration

To whom it may concern , I declare that the present research work entitled "**Single Cell Protein (SCP) Production and extraction and using it in Manufacturing of labneh and spread cheese** "

is a new research work ,and that has never been studied by any other researchers for any other degree, and currently it is not submitted by any one for any degree . All the mentioned results are my own efforts, and done by the direct supervision of my guides, Prof . Dr .Samir Slik ,and Prof . Dr. Ahmad Hadal.All the referred literature are cited ,and well-documented in the list of references.

Candidate	**Prof**	**Prof**
Eng.Ibraheem.Safita	Samir Slik	Ahmad Haddal

قائمة المحتويات:

قائمة المحتويات: I

قائمة الجداول: VII

قائمة الأشكال: X

الملخص XII

Abstract XIV

1- المقدمة Introduction: 2

1-1- مبررات البحث (Warranty of research): 6

1-2- أهداف البحث (Aims of research): 7

2- الدراسة المرجعية LITERATURE REVIEW: 9

2-1- مصل الجبن خواصه وتركيبه (Cheese Whey Formeres and its Properties): 9

2-2- التركيب الكيميائي للمصل (The Structure Chemistry of Whey): .10.....

2-3- الطرائق الصناعية التقليدية لمعالجة المصل: 17

2-4- الطرائق البيوتكنولوجية لمعالجة المصل: 21

2-5- الخمائر (Yeasts): 22

2-5-1- الأهمية الصناعية لخمائر *Kluyveromyces lactis*: .24.....

2-5-2- الخصائص المميزة لخمائر *Kluyveromyces. lactis*: .27.....

2-5-3- آلية إنتاج البروتين وحيد الخليةSCP بواسطة *Kluyveromyces lactis*: .29.

2-6- القيمة الغذائية للبروتين وحيد الخلية SCP: .....32.....

2-7- الركائز والأحياء الدقيقة المستخدمة لإنتاج البروتين وحيد الخلية: .....35.

2-7-1-إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP باستخدام المصل كركيزة: .....42.

2-7-2- البروتين وحيد الخلية SCP (Single Cell Protein): .....47.

2-8- المخمرات وآليات إكثار الأحياء الدقيقة: .....48.....

2-8-1- المتطلبات التكنولوجية لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP: .....50.

2-8-2- مصادر الطاقة (الكربون) (Energy Resources): .....50.

2-8-3- مصادر النتروجن (الآزوت) (Nitrogen Resources) : .....51.

2-8-4- الماء (Water): .....51.....

2-8-5- العناصرالمعدنية (Mineral Elemets): .....52.....

2-9- الطرق المتبعة لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP في المخمرات: .....53.

2-9-1- الطريقة المتقطعة للنمو Batch Cultivation: .....53.....

2-9-2- الطريقة المستمرة للنمو Continuous Cultivation: .....55.

2-9-3- الطريقة نصف المستمرة Fed-BatchCultivation: .....55.

2-10- الأمان في استعمال البروتين وحيد الخلية (SCP) للتغذية: .....56.

2-11- استخدام البروتينات في تصنيع اللبنة: .....61.....

2-11-1- الطرائق التقليدية لتصنيع اللبنة (اللبن المصفى): .....62.....

2-11-2- الطرق الحديثة في تصنيع اللبنة: .....65.....

2-11-3- فوائد اللبنة في التغذية: .....67.....

2-11-4- إضافة البروتينات إلى اللبنة: .....69.....

2-12- استخدام البروتينات في صناعة الأجبان القابلة للمد: .....71.....

2-12-1- الجبن المطبوخ االقابل للمد Spread Cheese : .....71....

2-12-2- إضافة البروتينات إلى الحليب المخصص لصناعة الجبن القابل للمد: .....76.

2-13- مردوداللبنة و الجبن والعوامل المؤثرة عليه: .....78.....

3- مواد وطرائق البحث MATERIALS AND METHODS: .....81..

3-1- المواد والأجهزة المستخدمة Materials: .....81.....

3-1-1- المصل الخام (Raw Whey): .....81.....

3-1-2- راشح المصل Permate : .....81.....

3-1-3- سلالة نقية للخميرة *Kluyveromyces lactis* 42-K: .....81.

3-1-4- جهاز الترشيح فوق العالي UltraFiltration: .....82.....

3-1-5- المخمر الحيوي: .....83.....

3-2- طرائق القياس Methods: .....86.....

3-2-1- التحاليل الكيميائية للمصل وراشح المصل: .....86.....

3-2-2- الطرق المخبرية لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP: .....88..

3-2-3- الإختبارات المتعلقة بإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP): .....92.

3-3- تصنيع خلطات اللبنة بإضافة البروتين وحيد الخلية SCP بالطريقة المباشرة مخبرياً: 98.

3-4- تصنيع الأجبان القابلة للمد من الحليب مباشرة باستخدام البروتين وحيد الخليةSCP: 102

3-5- اختبارات اللبنة و الجبنة القابلة للمد: .....106.....

3-6- التقييم الحسي Sensory evaluation : .....107.....

3-7- التحليل الإحصائي Experimental Design and Statistical Methods: 111.

4- النتائج والمناقشة RESULTS AND DISCUSSION: .....113.....

4-1- نتائج تحليل التركيب الكيميائي للمصل الخام: .....113.....

4-2- نتائج تحليل راشح المصل الحاصل بعملية الترشيح فوق العالي UF: .....114.

4-3- تحديد الشروط المثالية لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) من خميرة

Kluyveromyces lactis: .....116.....

4-3-1- تركيزالوسط (اللاكتوز) : .....117.....

4-3-2- الأس الهدروجيني الـpH: .....119.....

4-3-3- درجة الحرارة: .....120.....

4-3-4- زمن التخمر : .....122.....

4-3-5- عدد الدورات للحاضنةالهزازة: .....123.....

4-3-6- معدل التهوية الأمثل PO2: .....125.....

4-4- استخلاص البروتين وحيد الخلية (SCP): .....126.....

4-5-نتائج التحليل الكيميائي للبروتين وحيد الخلية (SCP): .....127.....

4-6- نتائج تحليل الاختبارات الميكروبية للبروتين وحيد الخلية (SCP): .....130.

4-7- نتائج تحليل وجودعناصر المعادن الثقيلة في البروتين وحيد الخلية: .....132.

4-8- نتائج تقييم جودة البروتين وحيد الخلية (SCP) : .....134.....

4-9- نتائج الإختبارات الكيميائية لعينات اللبنة: .....137.....

4-10- نتائج التحاليل الميكروبية لعينات اللبنة: .....140.....

4-11- التقييم الحسي لعينات اللبنة : .....141.....

4-12- نتائج الإختبارات الكيميائية للمواد الداخلة في صناعة الجبنة المطبوخة القابلة للمد: 145

4-13- نتائج الإختبارات الكيميائية لعينات الجبنة القابلة للمد المختبرة: .....145.

4-14- نتائج التحاليل الميكروبية لعينات الجبنة القابلة للمد: .....148.....

4-15- نتائج التقييم الحسي لعينات الجبنة القابلة للمد : .....150.....

4-16- الجدوى الإقتصادية لإضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) إلى اللبنة والجبنة القابلة للمد:

.....154.....

4-16-1- الجدوى الإقتصادية لتصنيع اللبنة المدعمة بالبروتين وحيد الخلية: .....154.

4-16-2- الجدوى الإقتصادية لتصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد المدعم بالبروتين وحيد

الخلية: .....155.....

5- الاستنتاجات CONCLUSIONS: .....158.....

6- المقترحات والتوصيات RECOMMENDATIONS: .....160.....

7- الملحق Appendix: .....163.....

8- الإصطلاحات العلمية .....173.....

9- المراجع العلمية REFERENCES: .....176.....

قائمة الجداول:

الجدول–1. إنتاج الحليب وكمية الأجبان والمصل الناتج عنه في القطر العربي السوري 5.....

الجدول–2. التركيب الكيميائي للمصل بنوعيه الحلو والحامضي: .....10.....

الجدول–3. محتوى المصل الحلو والحامضي من الأملاح المعدنية: .....14....

الجدول–4. المحتوى التقريبي للفيتامينات في المصل: .....15.....

الجدول–5. تركيب راشح المصل: .....18.....

الجدول–6. متوسط التركيب من العناصر الأساسية في البروتين وحيد الخلية SCP: .33.....

الجدول–7. مستويات الحموض الأمينية في بروتينات بعض الأغذية: ..34.....

الجدول–8 . العناصرالمعدنية اللازمة لنمو الخمائر والأحياء الدقيقة: .....52....

الجدول–9. القيمة التغذوية لبعض أنواع من البروتينات: .....57.....

الجدول–10. الحاجة اليومية من البروتين وفق WHO وFAO .....58.....

الجدول–11. أكثر الدول عالمياً في إنتاج الجبن USDA: .....72.....

الجدول–12. مواصفات غشاء الترشيح فوق العالي: .....82.....

الجدول–13. مواصفات غشاء الترشيح فوق العالي: .....85.....

الجدول–14. النسب المئوية لإضافة البروتين وحيد الخلية SCP إلى عينات اللبنة: .101.....

الجدول–15. النسب المئوية لإضافة البروتين وحيد الخلية SCP إلى عينات اللبنة: .105.....

الجدول–16. التقييم الحسي للعينات المختبرة من اللبنة: .....108.....

الجدول–17. التقييم الحسي للعينات المختبرة من الجبنة القابلة للمد .....109...

الجدول–18. استبيان تقييم المستهلك .....110.....

الجدول–19. النسب المئوية لمكونات المصل الخام المستخدم في الترشيح: .....114.

الجدول–20. النسبة المئوية لمكونات راشح المصل: .....116.....

الجدول–21. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة تركيز الوسط: .....118.....

الجدول–22. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة الـpH: .....120.....

الجدول–23. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة درجة الحرارة: .....121.....

الجدول–24. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة زمن التخمر : .....123.....

الجدول–25 . تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة عدد الدورات: .....124.....

الجدول–26. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة التهوية: .....126.....

الجدول–27. التحليل الكيميائي للبروتين وحيد الخلية SCP .....130.....

الجدول–28. نتائج التحليل الميكروبي للبروتين وحيد الخلية (SCP): .....132.....

الجدول–29. المعادن الثقيلة للبروتين وحيد الخلية (SCP): .....134.....

الجدول–30. نتائج تقييم جودة البروتين وحيد الخلية (SCP): .....136.....

الجدول–31. التركيب الكيميائي لخلطات اللبنة الناتجة: .....140.....

الجدول–32. التقييم الحسي للخلطات (عينات اللبنة): .....143.....

الجدول–33. استبيان تقييم المستهلك لعينات اللبنة: .....144.....

الجدول–34. الإختبارات الكيميائية للمواد الداخلة في صناعة الجبنة المطبوخة القابلة للمد: 145.

الجدول–35. نتائج التحليل الكيميائي لخلطات الجبنة القابلة للمد: .....148.....

الجدول–36. نتائج التحليل الميكروبي لخلطات الجبنة القابلة للمد: .....149.....

الجدول–37. التقييم الحسي للخلطات: .....152.....

الجدول–38. استبيان تقييم المستهلك لعينات الجبنة القابلة للمد: .....153.....

الجدول–39. مقارنة تكاليف عينات اللبنة عند إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP): .....155.

الجدول–40. مقارنة تكاليف عينات الجبنة القابلة للمد عند إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP)

.....156.....

الجدول–41. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 2% ..163.

الجدول–42. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 4% ..164.

الجدول–43. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 6% ..165.

الجدول–44. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 8% ..166.

الجدول–45. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 10% .167.

الجدول–46. تحديد نسبة اللاكتوز في الحليب باستخدام الريفراكتومتر .168.....

قائمة الأشكال:

الشكل–1. سكر اللاكتوز بنوعيه إلفا لاكتوز وبيتا لاكتوز: .....12.....

الشكل–2. المنتجات التجارية المستحصلة من مصل الأجبان: .....16.....

الشكل–3. مخطط توضيحي لعملية الترشيح فوق العاليUF: .....20.....

الشكل–4 . خلايا خميرة الـ *Kluyveromyces. Lactis:* .....27.....

الشكل–5 . مشيجة (ميسيليوم) الـ *Kluyveromyces lactis* .....28.....

الشكل–6 . آلية إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP بواسطة خميرة *K. lactis* .....29.

الشكل–7 . المخمر الحيوي: .....49.....

الشكل–8 . آلية عمل المخمرالحيوي: .....49.....

الشكل–9 . منحني النمو للطريقة الدورية: .....54.....

الشكل–10. مخطط مراحل تصنيع اللبنة بالطريقة التقليدية: .....64.....

الشكل–11. جهاز الترشيح فوق العالي المخبري .....83.....

الشكل–12. تصنيع اللبنة بإضافة البروتين وحيد الخلية SCP: .....99.....

الشكل–13. مخطط تصنيع الأجبان القابلة للمد باستخدام البروتين وحيد الخليةSCP: .102....

الشكل–14 . خلايا وحدة التخميرالتجريبية (electrolab) .....168.....

الشكل–15 . تأثير تركيز اللاكتوز في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis* .169....

الشكل–16 . تأثير الأس الهيدروجيني في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis* .169

الشكل–17 . تأثير درجة الحرارة في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis* .....170.

الشكل–18 . تأثير زمن التخمر في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis* .....170.

الشكل–19 . تأثير تغيرعدد الدورات في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis* ..171.

الشكل–20 . تأثير معدل التهوية في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis* .....171.

الشكل–21 . مخطط استبيان تقييم المستهلك لعينات اللبنة .....172.....

الشكل–22 . مخطط استبيان تقييم المستهلك لعينات الجبنة القابلة للمد .....172.....

الملخص

أجريت عملية الترشيح فوق العالي UF لعينات من مصل الجبن العكاوي لإزالة الدسم والبروتينات للحصول على المصل منزوع البروتينات والدسم (راشح المصل) الغني بسكر اللاكتوز والذي تم تركيزه بالتبخير, و أعد بعناية كبيرة بعد تدعيمه بالمواد المغذية كبريتات الأمونيوم (NH4)2SO4 بمقدار(0.2) ml100/gr وكبريتات المغنزيوم (MgSO4) بمقدار (0.2) ml100/gr , وفوسفات ثنائية الأمونيوم (NH4)2Hpo4 بمقدار (0.3) ml100/gr ليكون وسطاً ملائماً لنمو الخمائر القادرة على تمثيل السكر وتم اختيار (15) عينة عشوائية حللت كيميائياً مع المصل المأخوذة منه .

بعدها اختيرت سلالة نقية للخميرة (42-K) *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 (42-K) *Kluyveromyces.lactis* للحصول على البروتين وحيد الخلية (SCP) حيث بينت النتائج أن الشروط المثالية لنمو الخميرة على المصل منزوع البروتينات والدسم كانت كالتالي , تركيزسكر اللاكتوز (6.5%) , والأس الهيدروجيني pH (5) , ودرجة الحرارة المثالية (30C°), وزمن التخمر المثالي (24 ساعة) ,وفق عدد دورات في الحاضن الهزاز بلغ (350 دورة/دقيقة), وبمعدل تهوية PO2 مثالية بلغ (8%).

طبقت القيم المثالية للتخمرفي المخمر الحيوي من نوع elctrolab وتم الحصول عل الكتلة الحيوية التي أجريت عليها عمليات التسخين بحرارة 75-90C° للحصول على البروتين وحيد الخلية (SCP) .

أجريت الإختبارات الكيميائية على العينات الـ 15 المأخوذة وكانت النتائج ضمن الحدود المسموح بها لمنظمة 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 .

أضيف البروتين وحيد الخلية (SCP) بالتناوب مع الحليب المجفف خالي الدسم بنسب مدروسة إلى اللبنة بالطريقة المباشرة وإلى الجبنة القابلة للمد وتراوحت النسب بين (1– 10)% .

أثبتت نتائج الإختبارات الكيميائية والميكروبية للبنة على أنها ضمن الحدود المسموح بها للمواصفات القياسية السورية والمواصفات العالمية كما جرى تقييم العينات حسياً ودلت النتائج أنه لا يمكن زيادة نسبة الإضافة في اللبنة عن (4%) .

كما أثبتت نتائج الإختبارات الكيميائية والميكروبية على الجبنة المطبوخة القابلة للمد على أنها ضمن الحدود المسموح بها للمواصفات القياسية السورية والمواصفات العالمية كما جرى تقييم العينات حسياً ودلت النتائج أنه لا يمكن زيادة نسبة الأضافة في الجبنة القابلة للمدعن (3%) .

كما دلت نتائج دراسة جدوى إقتصادية مبسطة وجود ربح جيد لدى إنتاج لبنة مدعمة بالبروتين وحيد الخلية (SCP) بنسبة (4%) وأيضاً لدى تصنيع جبن مطبوخ قابل للمد, مدعم بالبروتين وحيد الخلية (SCP) بنسبة (3%) .

Abstract

The Ultrafiltration (UF) technology was conducted on samples of akawe cheese whey to obtain the non-protein and fat whey (permeate) that rich in lactose and was concentrated by evaporation and carefully prepared after fortification by nutrients, (0.2) gr/100ml (NH4)2Hpo4 and (0.2) gr/100ml MgSo4, and (0.3) gr/100ml (NH4)2SO4, and prepared as a fermentation medium for yeasts capable of metabolizing sugar, and after that (15) samples were chosen and chemically analyzed along with the whey. Pure isolated *Kluyveromyces lactis* (42-K) yeast, recognized by ß- galagtosidase enzyme and its important application in food, medicine and pharmacy, was proliferating on the fermentation medium. The optimal conditions were determined to obtain single cell protein (SCP). The results referred that typical conditions of yeast growth were (6.5)% lactose concentration, pH (5), temperature (30°c), Fermentation time (24) hour, and the optimal speed of incubator shaker (350) rpm and the typical average of aerator (8%).

The optimal values were applied in the bio fermentor (electrolab) to obtain biomass which was heated at (75-90 c°) for the extraction of the Single Cell Protein (SCP).

The chemical analysis was conducted on (15) samples of single cell protein (SCP), and the results were in accordance with all the Syrian special specification, and (FOA) specification. The microbial estimated results met (FOA) specification, and the product was free from toxicity elements and cancered factors, which proved that the product was with high quality of proteins.

The single cell protein (SCP) was added to Labneh, that manufactured by direct method, and to the proceed speared cheese between (1-10%), alternately with dried skimmed milk. The chemical and microbial analysis of Labneh met all the Syrian special specification and international codex. The result of sensory evaluation referred that percentage of single cell protein (SCP) must not exceed (4%) in the Labneh.

The chemical and microbial analysis of proceed speared cheese met all the Syrian special specification and international codex. The result of sensory evaluation referred that the percentage of single cell protein (SCP) must not exceed (3%) in the proceed speared cheese.

The results of a simplified feasibility study on the Labneh supported by single cell protein (SCP) (4%), and proceed speared cheese supported by single cell protein (SCP) (3%), referred to good gaining both of the products.

الفصل الأول

المقدمة

INTRODUCTION

1- المقدمة Introduction:

تحتاج الأحياء الدقيقة والتي تعتبرأصغر الكائنات الحية و الحوت الأزرق أكبرها للغذاء، فهو ضروري لاستمرار الحياة والتطور, و تعد قضية تحقيق الأمن الغذائي العالمي و مشكلة التلوث البيئي الشغل الشاغل لجميع دول العالم اليوم(Anupamaa و Ravindra ,2000) .

تواجه معظم البلدان النامية في العالم . مشكلة سوء التغذية وقلة نسبة البروتين في وجباتها الغذائية وكنتيجة حتمية للنمو السكاني المتزايد فإن الفجوة مستمرة في الاتساع ما بين الزيادة السكانية وقلة الموارد الغذائية , لذا كان من الأهمية بمكان البحث عن مصادر جديدة للغذاء ، باستخدام جميع السبل والوسائل المتاحة والممكنة لتحقيق الأمن الغذائي ومعالجة مشكلة التلوث البيئي (Gashgari,1999).

إن فكرة استخدام الأحياء الدقيقة كمصدر للغذاء ليست بالفكرة الحديثة فقد أشارت المراجع ذات الصلة إلى أن استخدام الأحياء الدقيقة يعود إلى أكثرمن 3100 سنة قبل الميلاد وذلك من خلال استخدامها في صناعة الأجبان والألبان والحموض العضوية وإنتاج الخميرة الغذائية، إن هذه الفكرة قد لا تروق للكثيرين من الناس ولكنها وبالتأكيد وجدت كحل إبداعي وعبقري لسد الحاجات الغذائية المتزايدة (Qiang وآخرون, 2009),(Singh وStaron,1998) .

تملك البروتينات دوراً إيجابياً أكثر من سواها من المغذيات على الصحة العامة فهي تترافق مع الصحة الجيدة والقوة والحيوية (Huang وآخرون,2007).

يحتاج الإنسان و الكائنات الحية إلى البروتين كعنصر غذائي أساسي ومهم للنمو ، ولتصنيع مركبات الجسم الحيوية والحصول على الطاقة اللازمة للحياة ، حيث يتم التزود بالبروتينات إما من

مصادر حيوانية (لحوم,حليب, بيض)، أومن مصادر نباتية (بقوليات) حيث يشكل الإحتياج اليومي للإنسان 1-2,3 gr من البروتين لكل1 كغ من وزن الجسم / 24ساعة وهذا الوارد البروتيني لا يمكن الإستعاضة عنه من مصادر غذائية أخرى بسبب الحاجة الضرورية للحموض الأمينية لقيام جسم الإنسان بالنشاط اليومي (صادق,1993) ،(حمد,1992).

لقد بدأ العلماء بالبحث عن مصادر غير تقليدية للبروتينات ومنها إنتاج البروتين الحيوي(وحيد الخلية) وذلك بتنمية الكائنات الحية الدقيقة على المصادر الكربونية الزراعية (قشور الأرز,بقايا الذرة والشعير,السيليلوز الناتج من الأخشاب) ، أو الصناعية (مولاس, إيتانول, مصل, مخلفات نفطية) كمصدر أساسي لإنتاج البروتين وحيد الخلية (Abdljabbar وآخرون , 2008) .

لقداعتبرت فكرة إنتاج البروتين وحيد الخلية (Single Cell Protein (SCP من مصادر كربوهيدراتية أوكربونية أولية متوفرة محلياً عملية هامة جداً لما ما ستقوم به من سد العجز الغذائي في السنين القادمة حيث أن المصدر الجديد لهذه البروتينات هي الكائنات الحية الدقيقة من البكتريا والفطور والخمائر(إسماعيل، 2004)، (Nigam,2000).

المصل أحد نواتج عملية تصنيع الألبان (الأجبان والكازئين)، ويعزى إليه كثير من المشاكل البيئية نظراً لارتفاع (BOD5) نسبة المتطلب الحيوي لـلأكسجين في المصل, والذي بلغ وحسب دراسة لـ Rao وSaloojaعام(1990), مانسبته 60.000-30.000 mg O2/L في المصل بينما كان الـ(BOD5) لراشح المصل في دراسة لـ Yang و Guo (1990), حوالي 32.000 O2 mg/ L ويطرح المصل وراشح المصل في المجاري المائية أو الأنهار ويسبب قدراً كبيراً من التلوث وموت الأحياء المائية، يعد المصل وسطاً ملائماً لنمو الأحياء الدقيقة لذلك لا يمكن حفظه لفترات

طويلة على درجات الحرارة العادية ، ولا بد من معالجته لإطالة مدة الحفظ وهذا ما دعا الباحثين في هذه المجالات للتوجه إلى تصنيع المصل وإنتاج عدة منتجات مختلفة منه (Ramadan و 2005,Gyula).

أوضح مهنا (2002), أن تصنيع طن واحد من الجبن ينتج عنه أكثر من ثمانية أطنان من المصل وأن تصنيع طن واحد من الكازئين ينتج عنه أكثر من خمسة وعشرين طناً من المصل كما بين أن التلوث الناتج عن مائة لتر من المصل يعادل التلوث الناجم من مخلفات خمسة وأربعين شخصاً, في بريطانيا على سبيل المثال ينتج أكثرمن 2 بليون لتر من المصل يستخدم حوالي ثلث الكمية في الغذاء ويرمى الباقي كفضلات في المجاري المائية والأنهار، كما يستخدم في الوقت الحالي لإنتاج البروتين وحيد الخلية كأوساط للتخمر وكذلك كإضافات للزبدة الصناعية (قشاري 1997,),(Lou وآخرون,2007).

ذكر Hassan وآخرون (2004) ، أنه للطرائق البيوتكنولوجية أهمية خاصة بين الطرائق المختلفة لمعالجة المصل حيث تعتبر من الطرق النظيفة بيئياً وغير المكلفة اقتصادياً والتي تحافظ على القيمة البيولوجية لمكونات المصل كما أكد Harender وآخرون (2007),أن لعملية إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP أهمية كبيرة في حماية البيئة من التلوث , وذلك باستخدام المخلفات الصناعية والزراعية كركيزة (Sub strate) لإنتاج ونمو الكائنات الحية الدقيقة وتخفيض الـ BOD في الوسط إلى الحد المسموح به.

يبين الجدول (1) كميات إنتاج الحليب والأجبان في الجمهورية العربية السورية بين عامي 2006- 2010 وذلك حسب تقدير المكتب المركزي للإحصاء , حيث يتم تحويل ما نسبته 45% من

كميات الحليب المنتجة إلى أجبان وينتج عنها كميات هائلة من المصل تقدر بملايين الأطنان لا يتم الاستفادة منها بالشكل الأمثل حيث يرمى أغلبها في الصرف الصحي وتسبب قدراً كبيراً من التلوث وتؤدي إلى هدر هائل في المال العام.

الجدول–1. إنتاج الحليب وكمية الأجبان والمصل الناتج عنه في القطر العربي السوري

العام	2006	2007	2008	2009	2010
كمية الحليب/ طن/	2535000	2680000	2425000	2409000	2241000
كميةالأجبان /طن/	136812	144076	128527	121239	115551
كمية المصل/طن/	1162902	1224646	1092479.5	1030531.5	982183.5

المصدر: المجموعة الإحصائية السورية 2011

1-1- مبررات البحث (Warranty of research):

العمل على تحقيق الأمن الغذائي من خلال إيجاد وارد غذائي بروتيني متجدد قادر على تلبية الإحتياجات الغذائية اليومية من البروتين وإنتاج غذاء اَمن 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 المنتج في المعامل والورش المصنعة للجبن في مياه الصرف الصحي والتي تسبب قدراً كبيراًمن التلوث وموت الأحياء الدقيقة والخلل في التوازن البيئي , ووضع حلول جديدة لبعض المشكلات التي تحدث أثناء تصنيع المنتجات اللبنية بخاصة مشكلات تخثر الحليب أثناء البسترة او التعقيم في الأبراج الناتج عن إرتفاع الحموضة والتي ينتج عنها خسائر مادية هائلة وذلك بإعادة تصنيعها وإضافتها إلى خلطات مدروسة لتصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد .

2-1- أهداف البحث (Aims of research):

1 -الاستفادة من سكر اللاكتوز ال موجود في مصل الأجبان كأوساط يستفاد منها في إنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) بالتخمير بإضافة الخمائر.

2 -تحديد الشروط المثلى لعملية التخمر من درجة الحرارة وتركيز الوسط وأس هيدروجيني وتهوية وذلك باستخدام البرامج الإحصائية المناسبة.

3 -اجراء استخلاص وتجفيف للبروتين وحيد الخلية (SCP) من الكتلة الحيوية و تقييمه من الناحية الكيميائية والميكروبية والصحية.

4 -دراسة تأثير إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) إلى الحليب المخصص لصناعة اللبنة في الخواص الحسية والكيميائية والميكروبية للبنة.

5 -دراسة تأثير إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) إلى الجبنة المطبوخة القابلة للمد في الخواص الحسية والكيميائية والميكروبية للجبنة المطبوخة القابلة للمد.

6 -دراسة الجدوى الاقتصادية لعملية الإضافة ومقارنتها مع الشاهد.

الفصل الثاني

الدراسة المرجعية

Literature Review

2- الدراسة المرجعية LITERATURE REVIEW:

2-1- مصل الجبن خواصه وتركيبه (Cheese Whey Formeres and its Properties):

يعتبر الحليب وعلى وجه الخصوص حليب الأبقار ومشتقاته من المصادر الهامة للغذاء اليومي بالنسبة للإنسان والضرورية لحياة الرضع والأطفال في مختلف بلدان العالم وذلك لاحتوائه على معظم العناصر الغذائية الضرورية من البروتينات والكربوهيدرات والمواد الدسمة والمعادن والفيتامينات والأنزيمات (Uallah وآخرون ,2005), (Kosikowski ,2004).

ويعرف المصل (Whey) على أنه السائل الذي ينفصل بعد تجبن الحليب و المحتوي على جميع مكونات الحليب (حوالي 50%من محتوى الحليب من المادة الصلبة الكلية وحوالي 20% من بروتين الحليب و 96% من سكر اللاكتوز و 14% من المواد الدسمة والمعادن)، وتنتج معظم كميات المصل في العالم عن صناعة الأجبان وبعضها ينتج عن صناعة الكازئين (Barth و Behnke ,,1997), (Tahoun وآخرون,1987) ,(Selim وآخرون,1991).

ميزت المواصفة القياسية السورية الخاصة (مساحيق مصل الحليب– 2537–لعام2002) بين المصل الحلو(Sweet whey) و المصل الحامضي (Acid whey), حيث أن الأول سائل ينتج من تخثير الحليب أو القشدة أو الحليب الفرز أو عند صناعة الجبن أو الكازئين أو أية منتجات مماثلة باستخدام أنزيمات المنفحة أما الثاني فنحصل عليه بعد التخثير باستخدام حموض من النمط الغذائي .

2-2- التركيب الكيميائي للمصل (The Structure Chemistry of Whey):

أشار Byund عام (1995), و(Croissant وآخرون , 2009) ,إلى اختلاف تركيب المصل الجدول(2) , تبعاً لطريقة التصنيع التي تم إنتاجه بها فالتركيب الكيميائي لمصل الجبن غير ثابت،ويمكن أن يتعرض لتغيرات كبيرة ترتبط بشكل أساسي بتركيب المادة الأولية (حليب كامل الدسم،أو حليب منزوع الدسم) وبطريقة فصل أو ترسيب البروتين بتأثير الحموض العضوية،أو الحموض اللاعضوية، أو الأنزيمات، أو بالترشيح فوق العالي.

كمابين Kosikowski و Mistry (1997), أن القيمة الغذائية للمصل تعادل 5.5% من القيمة الغذائية للحليب الخام بسبب احتوائه على معظم مكونات الحليب الخام من السكريات والبروتينات ذات القيمة الغذائية العالية.

الجدول-2. التركيب الكيميائي للمصل بنوعيه الحلو والحامضي:

المكونات	المصل الحلو %	المصل الحامضي %
مادة صلبة كلية	7-6	6-5
ماء	94-93	95-94
مواد دسمة	>0.1	>0.1
بروتين حقيقي	1-0.8	1-0.8
موادآزوتية غير بروتينية	0.18-0.16	0.18-0.16
سكر اللاكتوز	5-4.5	4.2-3.8
الرماد	0.7-0.5	0.8-0.7
pH رقم الحموضة	6.6-6.4	5.2-4.8
حمض اللبن	<0.04	0. 8

(1995,Byund)

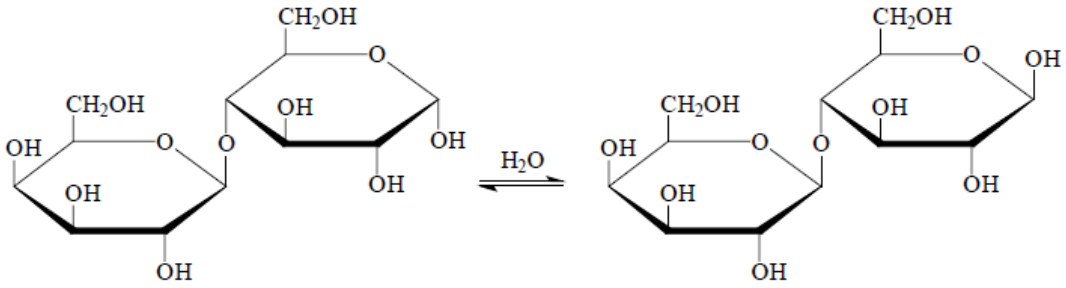
تتراوح نسبة الماء في المصل بـ ين 93-95% من كتلته الكلية وذلك بحسب نوعه ، ومعظم الماء الموجود الحر مما يمكن من فصله بسهولة عن مكونات المصل دون أي تغيير يذكر على صفاته، كما يحتوي المصل على المواد الدسمة بنسبة قريبة من 0.1 % ، وهذه النسبة تكون مرتبطة بكمية المواد الدسمة في المادة الأولية وبالطرق التكنولوجية التي تعامل بها الخثرة (عطرجي,1995).

تشكل بروتينات المصل حوالي 20% من بروتينات الحليب, تتمثل المواد الآزوتية في المصل بالبروتينات والمركبات العضوية غير البروتينية، و تقسم المواد البروتينية بشكل رئيسي إلى الألبومينات والغلوبولينات،و تشكل كميتها ما نسبته (90%) , أو أكثر من مجمل المواد الآزوتية الموجودة في المصل،بينما يشكل الكازئين حتى, (10%) من بروتينات المصل وغالباً ما يكون على شكل γ- كازيئين وإلى جانب الغلوبولينات تضم المواد البروتينية في المصل α–لاكتوألبومين،ألبومين المصل،البروتيوز بيبتونات والأنزيمات (طيفور,2008).

يحتوي المصل من بين مركباته الأزوتية على نسب من اليوريا واالكرياتينين و الحموض الأمينية الحرة، إن كمية الحموض الأمينية الحرة في المصل عادة قليلة، وترتبط كميتها بنوع المصل، وهذا الأمر مرتبط بالحلمهة العميقة لبروتينات الحليب بتأثير أنزيمات البكتيريا اللبنية وحمض اللبن ، (Moreno وآخرون, 2009), (Bowen وآخرون,2003).

وأوضح Castro وآخرون عام(2008), أن سكر اللاكتوز (شكل 1), يشكل مانسبته 4.5-6.5% من المادة الصلبة في المصل وبالتالي فهو المكون الأساسي للمادة الصلبة ، كما يحوي ما نسبته 0.15%من حمض (اللبن) ، و بين شعار وعطرة, (2006)، أن 900 ألف طن من المصل

تحتوي كمية 40 ألف طن من سكر اللاكتوز والتي يمكن أن ينتج عنها كميات كبيرة من المنتجات الأخرى.



Castro وآخرون (2008)

الشكل-1. سكر اللاكتوز بنوعيه إلفا لاكتوز وبيتا لاكتوز

يعتبراللاكتوز(سكر الحليب) سكراً ثنائياً من السكريات المرجعة، وهو مادة مميزة لمجموعة الحيوانات الثديّة، يتركب سكر اللاكتوز بشكل كامل في الغدد الثديية عن طريق التحويل المتسلسل لغلوكوز الدم إلى غالاكتوز، ومن ثم ربط جزيئتي سكر أحادي (غلوكوز – غالاكتوز) بواسطة رابطة غليكوزيدية, ويحضر اللاكتوز من المصل بطريقة البلورة حيث يستخدم اللاكتوز في الأغذية والمشروبات و كوسط تخمر للحصول على الأحماض العضوية وغيرها من منتجات التخمر مثل الكحول والبروتين وحيد الخلية (Naidu, 2000), (Zadow, 1992).

كما تبين لـ Schaafsma وآخرون (1988)، أن امتصاص الكالسيوم يزداد عند وجود اللاكتوز في الغذاء ويرجع ذلك إلى قابلية اللاكتوز لتشكيل معقد ذائب مع الكالسيوم أو تحوله إلى حمض اللبن الذي يخفض الـ pH ويزيد من ذوبان أملاح الكالسيوم, أما Waard و Stadhouders

(1992), فقد وجدا أن اللاكتوز وسط تفاعل هام في الأمعاء الدقيقة للإنسان ويوفر الوسط الحامضي الذي يمنع نمو البكتريا التعفنية.

وقام Linko (1982)، بدراسة تصنيع اللاكتيتول Lactitol وهو أحد مشتقات اللاكتوز والذي يستخدم في تصنيع المنتجات الخاصة بمرضى السكر والمنتجات منخفضة الحريرات والمستحلبات الغذائية, واستخدم Booij(1985)، اللاكتوز في صناعة الكبسولات لإستخدامها كأغلفة في الصناعات الدوائية الصيدلانية, أما زيدان (2004) ,فقد أشار إلى إحتواء مصل جبن القريش على سكر الغلوكوز الذي ينتج عن حلمهة اللاكتوز أثناء إنتاج القريش بنسبة بلغت مابين 1.6 - 1.7%، كما قام عطرة وصطوف (2005), بدراسة إضافة مصل الجبن الخام لتحسين نوعية الخبز العربي باستخدام ثلاثة أنواع من الدقيق حيث أظهرت النتائج أن إضافة المصل بنسبة 25% كان له أثر إيجابي على النوعية أما إضافته بنسبة أعلى من ذلك فلها تأثير سلبي على جودة الخبز المصنع , كما أوضح كلاً من Renner و Renz-Schauen في عام (1986), أن العناصر المعدنية في المصل هي مركبات عضوية بنسبة (0.1-0.4)% ومركبات لاعضوية بنسبة (0.6 - 0.7%).

يوضح الجدول (3). محتوى الأملاح المعدنية في المصل الحلو والحامضي حيث يلاحظ ارتفاع نسبة الكالسيوم في المصل الحامضي .

الجدول– 3. محتوى المصل الحلو والحامضي من الأملاح المعدنية:

العنصر المعدني mg/1000g	المصل الحلو	المصل الحامضي
الكالسيوم	0.06	0.10
الفوسفور	0.04	0.05
البوتاسيوم	0.13	0.14
الصوديوم	0.05	0.05
الكلور	0.10	0.10
المغنزيوم	0.01	0.02

(Renner & Renz-Schauen,1986)

ذكر Papavasiliou وآخرون (2008) و(Nishimura ,2002)أن مصل الجبن يحتوي العديد من الحموض العضوية, كحمض اللبن , وحموض(البروبيونيك، النمل، الليمون). كماوجد شعار وعطرة (2006)، أن كمية حمض اللبن Lactic acid تتراوح (0.7-0.8%) في مصل الجبن البائت، بينما تكون كميته في حدودها الدنيا في مصل الجبن الطازج. أشارت الدراسات التي قام بها (1975,Porter) و(Reif وآخرون ,1976)، أن معظم الفيتامينات المتواجدة في المصل من النوع الذواب في الماء, أما الفيتامينات الذوابة في الدسم فتخرج مع خثرة الجبنة,وتبين لهم من خلال دراسة المصل وجود كميات مهمة من حمض االبانتوثنيك والثيامين والبيروكسيدين(فيتامينB6) و فيتامين C والريبوفلافين الموضحة بالجدول(4).

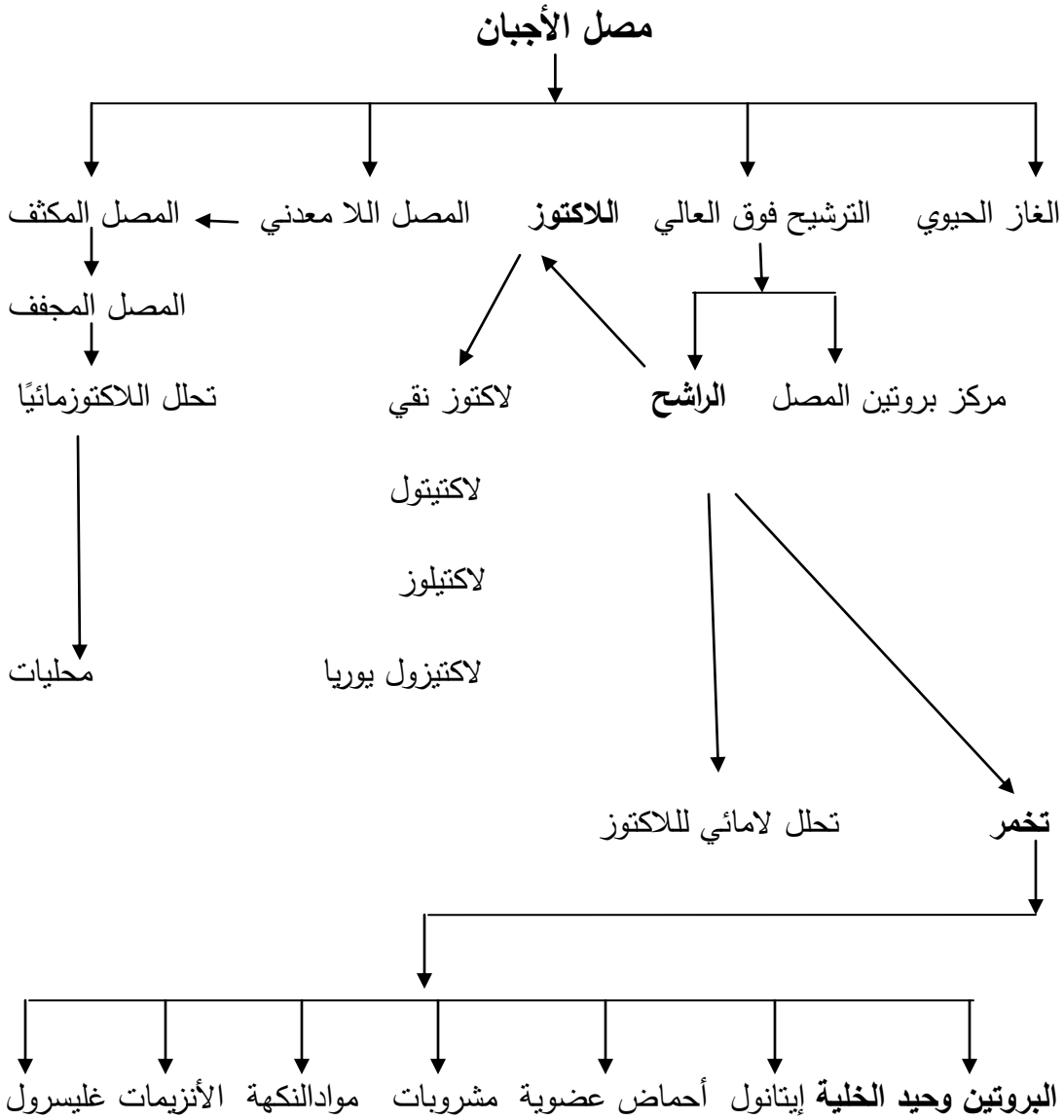
الجدول-4. المحتوى التقريبي للفيتامينات في المصل:

نوع الفيتامين	(ميكرو غرام / 100 غرام)
ثيامين (*B1*)	39
ريبوفلافين(*B2*)	157
بيروكسيدين (*B6*)	43
كوبلامين(*B12*)	0.27
حمض البانتوثينيك	432
بيوتين(*H*)	1.7
فيتامين *c*	230

(Porter ,1975)

و تتواجد الغازات أيضاً في المصل بشكل منحل مثل، غاز ثاني أوكسيد الكربون CO2 وغاز الآزوتN2، وغاز الأوكسجين O2، بحيث تكون كمية هذه الغازات في المصل أ قل منها في الحليب(Athanasios وآخرون ,2009)، إن جميع العناصر المتواجدة في المصل تجعل منه وسطاً ملائماً لنمو وتكاثر الأحياء الدقيقة كونه يحتوي على معظم المواد اللازمة لنمو الخمائر من مصادرالطاقة،والكربون،والعناصرالمعدنية (Balagtasوآخرون,2003) (Gerba وآخرون,2002).

يوضح الشكل (2). مجموعة كبيرة من المنتجات التجارية التي يمكن استحصالها من المصل.



الشكل–2. المنتجات التجارية المستحصلة من مصل الأجبان:

المصدر :(Gonzalez- Siso, 1996)

3-2- الطرائق الصناعية التقليدية لمعالجة المصل:

(The Industrial Traditional Method to Treatment the Whey)

تقوم المعالجة الصناعية لمصل الأجبان على الإستعمال الكامل لكافة الكتلة الجافة للمصل أو على تجزئته و استخلاص بعض مكوناته، مثل استخلاص اللاكتوز والمركزات البروتينية (Nahvi وآخرون,2004), (Ahmed و Morris, 1991).

لقد بينّ Robinson (1986)، أن المعالجة الحرارية للمصل تتم من خلال ترسيب بروتينات المصل في وسط حمضي بالتسخين(95C° لمدة 5-10 دقائق عند (pH=5) , هذه الطريقة سهلة ومنخفضة التكلفة ولكن ينتج عنها تشوه في البروتينات وانخفاض قابليتها للذوبان مما يؤدي أن يصبح قوامها رملياً وتفقد خصائصها الوظيفية الأمر الذي يؤدي إلى الحد من استعمالاتها في المجالات الدوائية دون التأثير في قيمتها التغذوية.

أشار عطرة عام (2000)، أن هناك العديد من طرائق معالجة مصل الجبن كالتجفيف، والفرز، والتركيز، وطرق كثيرة غيرها، غير أنّه في السنوات الأخيرة تزايد الاهتمام في العديد من البلدان المتقدمة نحو طرق الترشيح فوق العالية باستخدام الأغشية نصف النفوذة لمعالجة المصل , حيث تتيح طرق الترشيح الجزيئي لمصل الجبن باستخدام الأغشية نصف النفوذة توفير قدر كبير من الطاقة، والحصول على مكونات المصل مع المحافظة على خواصه الأوليّة دون تغيير يذكر، وهي من الطرق النظيفة بيئياً.

كما وجد Renner و Abd E-Salam (1991),أن تقانة الترشيح فوق العالي UF (الشكل 2-3), من أفضل الطرق المستخدمة لترشيح المصل الكامل و الحصول على بروتينات المصل كمنتج رئيسي, وتيار من السائل يسمى راشح المصل, وهو المحلول الذي يخترق الغشاء في عملية

UF للحليب أو المصل و يتألف بشكل رئيسي من الماء، و اللاكتوز بالإضافة إلى اللاكتوز فإن المعادن، و الفيتامينات تنقسم إلى قسمين قسم يتم احتجازه ، و قسم آخر ينفذ من الغشاء يملك راشح المصل مستويات عالية من اللاكتوز (5-7%)، يماثل السائل الأم الناتج عنه, وبقيمة مناسبة للتخّمر واستخدامه كأوساط لتنمية الخمائر والأحياء الدقيقة.

كما أوضح كلاً من Puda وVladisavijevic (1996), أنه لإستعادة جزيئات البروتين من المصل أو من المصل المركز قبل عملية التجفيف فإننا نستخدم تقانة الترشيح فوق العالي كما تستخدم UltraFiltrtion–لتركيز بروتينات المصل في الحليب والمصل، ولتركيز البروتينات في الحليب المعد لصناعة الجبن واللبن و المنتجات الأخرى كما يوضح الجدول التالي النسب المئوية لتركيب راشح المصل .

الجدول–5. تركيب راشح المصل:

المكون	النسبة المئوية %
اللاكتوز	4.94
البروتين	0.03
الآزوت اللابروتيني	0.10
الرماد	0.50
الدسم	≥0.01
حمض اللبن	0.15
الموادالصلبة الكلية	5.73

المصدر :Coton (1980)

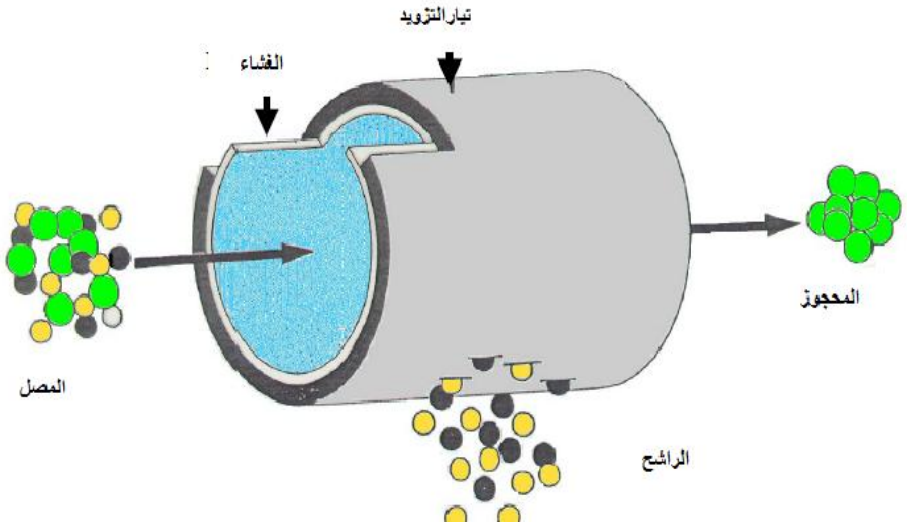
أوضح (Hassan وزملاؤه,2004) أن لراشح المصل في (UF) متطلب عالي من الأكسجين الحيوي حيث يتراوح رقم الـ BOD له بين mg o2/L(30000-40000) لذلك لا يمكن تصريفه مباشرةً كما هو مستعملة إلى المصارف الصحية حيث أنه يخلق مشاكل بالتصريف مساوية تقريباً للمشاكل التي يحدثها تصريف المصل الخام حيث أنه من المفترض تخفيض الـ BOD إلى حوالي15%.

اقترح Golver عام (1986) أن الراشح يجب أن لا يُعتبر كفاقد بل يمكن اعتباره كمصدر هام للسكريات التي يمكن استخدامها في معاملات تكنولوجية مختلفة و تتضمن استخداماتها في الغذاء البشري والغذاء الحيواني أومصدر للوقود الحيوي . كما بين كلاً من Kjaegaard و Oxlundعام (1988)، أن تقانة الـ حلول العكسي ReversOsmosis تستخدم لفصل الماء من المصل وراشح المصل ومن المكثفات , بينما تستخدم تقانة الترشيح النانومتري NanoFiltrtion - لإزالة الأملاح (NaCl)، جزيئياً من المصل و راشح المصل , أما طريقة الترشيح الدقيق MicroFiltrtion فتستخدم لتقليل الحمولة البكتيرية في حليب الفرز والمصل, وللحصول على المصل الخالي من الدسم والمعد لصناعة بودرة المصل (WPC)، و تعتمد تقانة الترشيح المستخدمة على قطر جزيئات المادة ونوع مادة الغشاء وشروط عملية الترشيح .

درس الباحث Herrman (1985)، معالجة المصل بالمبادلات الشاردية عبر إمتزاز بروتينات المصل(بالاستفادة من شحنتها السطحية) على سطوح إمتزاز ومن ثم فصل هذه البروتينات في المرحلة اللاحقة, ويعتمد عمود الفصل المختار والريزينات المستخدمة على نوع المصل وتركيبه ففي المصل الحامضي يستخدم عمود السفيروزيل كمبادل شاردي موجب عند رقم

حموضة منخفض للمصل pH=4.6 فتكون البروتينات على شكل شوارد موجبة تدمص على المبادل الشاردي الموجب أما في المصل الحلو فيستخدم عمودين من السفيروزيل الأول سالب والثاني مبادل للشوارد الموجبة الضعيفة.

أشار (شعار وعطرة,2006),إلى أنه يمكن بواسطة استخدام الكتلة الجافة لمصل الجبن إنتاج المشروبات المرطبة, وإنتاج المواد المكثفة (المركزة), والمواد المجففة المختلفة من المصل، لكن من الأفضل والأمثل استخلاص المركبات المختلفة من مصل الجبن كالمواد الدسمة وبروتين المصل وسكر اللاكتوز , كما أشار (بريشة وآخرون, 2002) إلى وجوب نزع بروتينات المصل (الألبومين واللاكتوغلوبولين) قبل استخدامه كوسط للتخمير وذلك لتجنب تشكل الرغاوي التي تعيق التخمركما يمكن بعد ذلك زيادة تركيز اللاكتوز بطريقة التبخير للوصول للتركيز المرغوب للوسط.



الشكل-3. مخطط توضيحي لعملية الترشيح فوق العاليUF

(1991) Abd E-Salam, و Renner

2-4- الطرائق البيوتكنولوجية لمعالجة المصل:

(The Biotechnology Method to Treatment the Whey)

تهدف الطرائق البيوتكنولوجية لتحقيق المهام الأساسية في رفع القيمة الاقتصادية للمصل وذلك بتحويله إلى مواد مختلفة ذات أهمية كبرى في الاقتصاد وتحقق الاستخدام الأعظمي لكامل مكونات الحليب (Hassan وآخرون,2004).

أوضح Cristiani-Urbnia وآخرون (2000), أن استخدام المصل يؤدي إلى الاستفادة من نحو 50% من الكتلة الجافة للحليب, بالإضافة إلى حماية البيئة من التلوث،حيث يعتمد ذلك على طرائق بيوتكنولوجية متكاملة تعمل على استعمال كامل مكونات الحليب دون إبقاء مخلفات صناعية، أو أنها تخفض وبشكل كبير نسبة المواد الملوثة الملقاة في مياه الصرف لمصانع الألبان.

أشارت الدراسات التي قام بها Qiang وآخرون (2009)، والدراسات التي قام بها Rockarand وآخرون (1999),إلى أن استخدام الطرائق البيوتكنولوجية لإنتاج المواد المختلفة من مصل الجبن عبارة عن عمليات تخمر هوائية ولا هوائية باستخدام أجهزة تدعى بالمخمرات،حيث تقود عمليات التخمر اللاهوائية للحصول على مركبات التحلل الطاقي لسكر اللاكتوز (كالحموض والكحولات) أما في حال استخدام عمليات التخمر الهوائية فإن الهدف هنا يكون الحصول على الكتلة الحيوية وأيضاً التركيب الحيوي النشط للمركبات العضوية المعقدة

(كالبروتينات،المواد الدسمة، الفيتامينات ومواد أخرى غيرها...) بواسطة البادئات الميكروبية (البكتريا والخمائر) , كما استعمل Ben وآخرون (1994) و Rodelas وآخرون (1993)، المصل لإنتاج الفيتامينات (الريبوفلافين), كما درس El-assar (2006)، إمكانية استخدام المصل كوسط لإنتاج حمض الليمون اعتماداً على فطر *Aspergiullus niger* كبادىء، واعتمد (Jain

وآخرون,1991)، الفطر نفسه لإنتاج حمض البربيونيك من المصل, بطريقة التخمير العميق بالمخمرات, وقام Mozaffar وآخرون(2006),باستعمال المصل كوسط لإكثار الخمائر وتبين من خلال التجارب التي قاموا بها أن المصل وسط مناسب للإكثار وإنتاج أنزيم *β-galactosidase* وبالتالي انتاج البروتين وحيد الخلية (SCP)، والتي اعتبرت كإحدى التقنيات المتطورة لمعالجة المصل ومن المجالات الجيدة في الإستفادة من هذا المخلف الصناعي في تنمية وإكثار الخمائر عليه والحد من التلوث الميكروبي لمنتجات المصل .

2-5- الخمائر(*Yeasts*):

الخمائر فطريات وحيدة خلية تتكاثر بالبرعمة أو الإنشطار ولا تحتوي على الكلوروفيل(اليخضور), لقدأشار Phaff وآخرون (1996) ,إلى أن استخدام الخميرة يرجع إلى تاريخ الإنسان الأول حيث عرف بالفطرة طريقة استخدامها وكانت الدراسات الأولى للخمائر هي التي قام بها العالم فان لوفنهوك حيث قدم رسومات لها من خلال العدسات المجهرية ثم أتى بعده لافوازييه ليبدأ دراسة التأثير الخمائري ومنذ بداية عام 1837م قام العلماء بعدة دراسات عن الخميرة وتوصلوا إلى نتائج هامة بأن الخميرة من أصل نباتي ، وأنها تنموا في الأوساط المغذية وأثبت باستور أن الخميرة مسؤولة عن عمليات التخمر الكحولي تبعه العالم بوخنر باكتشافات هامة شكلت الولادة الحقيقية لعلم الأحياء الدقيقة (بياعة والبلخي, 1996) ، ومن أهم الخمائرالمستخدمة في إنتاج البروتين وحيد الخلية خميرة *Kluyveromyces. lactis* تعد خميرة الـ *K. lactis* من الخمائر المنتجة للبروتين وحيد الخلية الـSCP حيث أن البروتين منتجاً رئيسياً للعمليات الاستقلابية التي تقوم بها الخميرة لدى إكثارهاعلى الأوساط المختلفة خلال مراحل النمو (بريشة وآخرون ،2002)

(صادق،1993) و (Gerba وآخرون,2002) , لقد 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 وحيد الخلية (SCP) بكميات مناسبة (Rajoka, 2006),(Gerba وآخرون, 2002).

وأكد VanOoyen وآخرون (2006)، أن خميرة الـ *Kluyveromyces lactic* من الخمائر الهوائية التي تقوم بالعمليات الإستقلابية في الظروف الهوائية وأهم هذه العمليات وأكثرها تعقيداً عملية استقلاب اللاكتوز وتحويله إلى بروتين عبر شبكة معقدة من التفاعلات الحيوية والأنزيمية.

كما وجد Gerba وآخرون (2002)، من خلال الأبحاث التي قاموا بها أن خميرة الـ *Kluyveromyces lactis* من الممكن أن تنتج البروتين وحيد الخلية (SCP) كمنتج خلوي (خميرة منتجة للبروتين) أو أن توجه الخميرة إلى إنتاجه وبكميات كبيرة تتعلق بشروط الإكثار والتنمية هذا بالإضافة إلى كون عملية إنتاج البروتين مرتبطة ببنية وراثية مميزة للخميرة حيث تقوم هذه البنية بالتحريض على إنتاج البروتين الخلوي.

أشار Bonekamp و Oosterom(1994), إلى وجوب كون الخمائر المستخدمة في الغذاء ذات قيمة غذائية عالية،وطعم مقبول ومعدل نمو عالٍ ومظهر جيد وأن تكون قادرة على الاستفادة من مصادر مختلفة للكربون والنتروجن وقد سجلت الخمائر الغذائية التابعة للجنس

Kluvyeromyces . lactis نجاحات راسخة لعقود في مجال الإستعمال الآمن في صناعة المواد الغذائية في خمسينيات وثمانينيات القرن الماضي الأمر الذي شجع بإستعمالها في كثير من المجالات الغذائية.

2-5-1- الأهمية الصناعية لخمائر *Kluyveromyces lactis*:

(The Industrial Importance of Kluyveromyces lactis Yeasts)

بينّ Castillo منذ عام1978 أن خميرة *Kluyveromyces lactis* من المصادر الرئيسية لإنتاج أنزيم اللاكتاز ومن أفضل السلالات قدرة على إنتاج هذا الأنزيم وخاصة إذا كان الوسط المستخدم مصل الأجبان الحاوي على سكر اللاكتوز,كما ذكر Sim وHang ،1996)، أن الخمائرمستخدمة في العديد من الصناعات مثل المشروبات الكحولية وإنتاج خميرة الخبّاز و الخمائر العلفية وكذلك في إنتاج الأنزيمات والفيتامينات و حمض السيتريك.

لقد وجد Ghaly وآخرون عام (2005)، ,أن الإمكانيات البيولوجية لخميرة *K.lactis* ليست محدودة بإنتاجها للبروتين الخلوي وحيد الخلية الـ (SCP) والذي استعمل كغذاء للرضع في ستينيات القرن الماضي بل تعداه إلى إنتاج الأغذية الوظيفية ال .(Fanctional Food) في الوقت الحالي كما استعملت الـ*K.lactis* لإنتاج مركبات النكهة والحموض العضوية كحمض اللبن.

كما قام Chen وآخرون (1992), بدراسة إنتاج أنزيم*Lactase* والذي أنتج بكميات كبيرة تحت الأسم التجاري Maxilact والمستعمل بشكل أساسي في منتجات الألبان لتخفيض نسبة اللاكتوز فيها كما يستخدم لإنتاج حليب خالٍ من اللاكتوز ليتمكن الأشخاص الذين يعانون مرض النفور اللاكتوزي (غياب اللاكتاز في أمعائهم) من شرب الحليب أوتناول منتجات يكون الحليب أساساً في

صناعتها, كما درس VandenBerg وآخرون (1990), استخدام الـ *K.lactis* لإنتاج أنزيم *chymosin* (الكيموزين)، المستخدم لتخثير الحليب وصناعة انواع مختلفة كثيرة من الأجبان، و استعملت *K.lactis* كمضافات غذائية في العديد من الصناعات الغذائية المفيدة، وتم النظر لها كخميرة غذائية تنافس في أهميتها كلاً من خميرة *Saccharomyces cerevisiae* وخميرة *Schizosaccharo mycespormbe*, (Colussi وآخرون,2005).

وكذلك بينَ Iwata وآخرون (2004), إمكانية إنتاج أنزيم الليزوزيم من خمائر *K. lactis* المتعدد الإستعمالات الصناعية والطبية , كما تمكن Lee وآخرون (2004)، من إنتاج اللاكتولوز من اللاكتوز بالحلمهة الأنزيمية بواسطة أنزيم (β-galactosidase) المنتج من خميرة *K.lactis* .

أشار Kumura وآخرون (2004)، إلى قيام عدة مختبرات بحثية في الولايات المتحدة الأمريكية بإنتاج بروتين الـ Recorm binant المستخدم في الحد من الخلايا السرطانية (Cancer)من خميرة *K.lactis* حيث تم توجيه الخميرة لتخليقه باستخدام الموجهات (Episornal) والذي يعالج الألم بسهولة بواسطة التقنيات والأجهزة الحديثة و أوضح VanOoyen وآخرون (2006),إمكانية إنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) بكميات مناسبة من الـ K. lactis وجيدة للإستعمال الغذائي, أما في مجالات الصناعات الطبية والصيدلانية فقد استخدمت الـ *K.lactis* من قبل مجموعة من العلماء Fleer وآخرون (1991a), لإنتاج البروتين العلاجي (Mammalian protien interleukin1-b), وقام Rech وآخرون (1999) , بدراسة إنتاج البروتين العلاجي (Interferon a.A)، وإنتاج بروتين (b-Lactoglobulin) المستخدمين في علاج أمراض السرطان من خميرة الـ*K. lactis* , أما Hua وآخرون (1994), فقد استخدموا خميرة الـ *K. lactis*

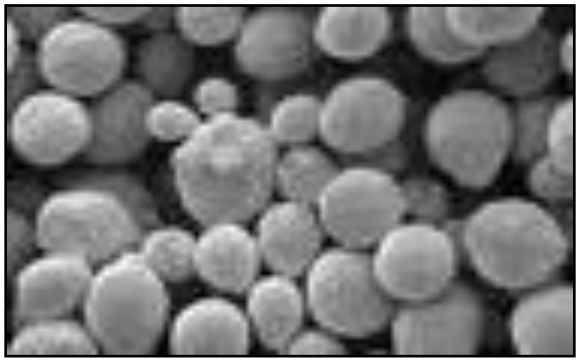
لإنتاج المستعمرات التي تحرض عامل (Macrophage)، واستطاع Feng وآخرون (1997), إنتاج بادئ الأنسولين من خميرة *K. lactis* لعلاج مرضى السكري ,كما درس مجموعة من العلماء إنتاج بروتين ألبومين مصل الدم من خميرة الـ*K. lactis* الخاص بالإستعمالات الطبية والذي يدخل في أدوية المناعة (Taronو Colussi ، 2005)

و(Saliola وآخرون,1999), كما تمكن Swennen وآخرون (2002)، و Robin وآخرون (2003)، من استخدام الـ *Kluyveromyceslactis* لإنتاج السلسلة الوحيدة للأجسام المضادة FV المستخدمة لعلاج مرض السرطان , كماوجد Mahmoudو Kosikowski في عام (2005) أن الـ*K. lactis* من االخمائر الهامة اقتصادياً والتي تنتج الإيتانول بكميات جيدة وأنها مناسبة لإنتاجه في الظروف اللاهوائية، وذلك لدى تنميتها على وسط من المصل .

2-5-2- الخصائص المميزة لخمائر *Kluyveromyces. lactis*:

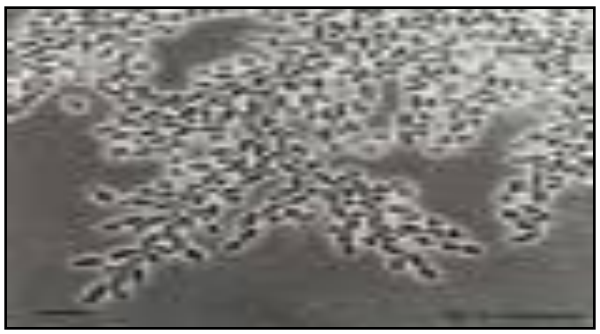
(The Characteristics Properties of *Kluyveromyces. lactis Yeasts*)

تبدو خلايا السلالة بيضويّة الشكل، وذلك بعد ثلاثة أيام من النمو على وسط الآغار، تتراوح أبعادها بين (3.0~7.0)x(2.0~5.5) ميكرون الشكل (4)،وعند نمو السلالةعلى وسط مغذي سائل وعلى وسط ريدر الحاوي اللاكتوز (بشكله السائل ومع الآغار) ، لا يلاحظ إختلافات جوهرية في شكل الخلايا و حجمها (Siso وDoval,1994).



الشكل-4 . خلايا خميرة الـ *Kluyveromyces. Lactis*

أوضح Merico وآخرون (2009), أن نموالسلالة على وسط مغذ صلب، وعلى وسط ريدر صلب مع اللاكتوز بتركيز 0.5~1.0%لمدة ثلاث أيام بدرجةحرارة 28c° تبدو المستعمرات بلون كريمي مائل للفضي،ملساء، وغيرلامعة، تشكل مشيجة (ميسيليوم) كاذبة متخلّفة (ضعيفة النمو) الشكل (5)، الأبواغ الزقية كروية الشكل، ويحوي الكيس البوغي (الواحد منها1~4أبواغ).



الشكل-5 . مشيجة (ميسيليوم) الـ *Kluyveromyces lactis*

كما وجد العالمان Siso و Dovle في عام 1994أن الحفظ الطويل لـ *K.lactis* في بنك السلالات يفقدها خاصية تشكيل الأبواغ،أما إذا حفظت السلالة في وسط مغذي سائل في درجة حرارة الغرفة فإنّها تشكل بعد شهر واحد من الحفظ راسب وحلقة.

وجدCavaille و Combes (1995)، أن خميرة الـ*K.lactis* تخمّر سكر الغلوكوز والسكروز و اللاكتوز والرافينوز، ولا تخمّر سكر المالتوز,و تستقلب الـ *K.lactis*الآزوت الأموني، ولا تستقلب النترات , كما أن السلالة لاتنمو في وسط مغذي غير حاوٍ على الفيتامينات، وتحتاج في نموّها لحمض النيكوتين والبيوتين , كما وجد(Bonekamp و1994,Oosterom) أن السلالة غيرسامة وغير ممرضة للحيوانات ذوات الدم الحار وللإنسان .

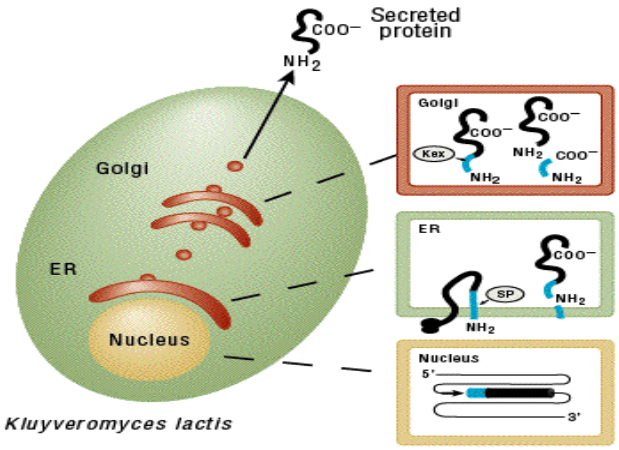
درس Merico وآخرون عام (2009)، قدرة خميرة الـ *K. lactis*على النموفي الظروف اللاهوائية وتبين من خلال الدراسة أن الخميرة قادرة على النشاط في هذه الظروف واستقلاب الغلوكوز بشكل أكبر وإنتاج الإيتانول والغليسرول كما يتباطئ معدل النموفي الظروف اللاهوائية.

أظهرت الأبحاث التي قام بها (Siso و1994,Doval) أن الـ *K. lactis* تنموفي المجال الحراريْ 20C° ~35 ، والحرارةالمثلى لنموها (30 ~ 28 C°) ، ولا تنمو في درجات حرارية أعلى من.37C° , وأوضحا أن وسط الحموضة المناسب لنمو الـ*K. lactis* هو (pH= 3.4 ~ 7.2) .

3-5-2- آلية إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP بواسطة *Kluyveromyces lactis*:

(The Operate mode Production of Single cell Protien (SCP) by *K.lactis)*

تحتوي خميرة *Kluyveromyces lactis* الشكل (6), على أنزيمات ومكتنفات خلوية تمكنها من استهلاك المواد المغذية واستقلابها وتحويل الآزوت في شروط محددة , الأمر الذي ينتج عنه تكوين البروتين الوحيد الخلية (SCP) أو في إنتاج المضادات الحيوية و الميتانول والإيتانول,(Milleو 1976,Litsky) , (1998 ,Uhlig), (Inو1998,Jin).



الشكل-6 . آلية إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP بواسطة خميرة *K. lactis*

درس Gerba وآخرون ,(2002) إكثار *Kluyveromyces. lactis* وإنتاج البروتين وحيد الخلية وتبين له أن البروتين يمكن أن يكون فيها كمنتج خلوي أويتم توجيه الخميرة لإنتاجه وبكميات معينة تبعاً لشروط الإكثار ولإنتاج البروتين لابد من توافر بنية وراثية مميزة تقوم بالعمل على إنتاج البروتين المرغوب وذلك بالتأقلم السريع مع وسط النمو في فترة وجيزة جداً .

لقد وجدRech وآخرون(1999) أنه يمكن رفع فعالية عملية إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP لهذه الخمائر باستخدام طريقة النمو نصف المستمرة (Fed - batch cultivition)حيث يتم استبدال ثلث (1/3حجم وسط النمو بمصل الجبن بدفعة جديدة منه) .

وجد (Siso وDoval ,1994) أن لخميرة الـ *Kluyveromyces. lactis* إنتاجية عالية من البروتين وحيد الخلية SCP الذي يمكن اعتباره قيمة غذائية, حيث تمتاز الـ *Kluyveromyces. lactis* بقدرتها العالية على تمثل واستقلاب المواد المغذية المتواجدة في وسط الإكثار،أو المواد المقدمة لها أثناء تنميتها على أوساط خاصة معدّة لهذا الغرض،ولاسيّما مقدرتها على التمثل الحيوي لسكر اللاكتوز مما يتيح الفرصة للحصول على المنتجات الحيوية المرغوبة وفقاً لشروط التنمية المتبعة (شروط هوائية، شروط لا هوائية)، تمكنها من استهلاك هذه المغذيات واستقلابها مما ينتج عنه تكوين البروتين الحيوي بكثافة نمو سريعة و عالية.

كما بين كلاً من Siso و Doval (1994), إمكانية اكثارها صناعياً بسهولة و تنميتها على أوساط رخيصة ومتوفرة و سهلة المعالجة مثل (المصل، المولاس، أو مزيج المصل مع المولاس) كما أن مقاومتها للتأثير السمي لـ *E.coli* الموجودة في وسط النمو يجعلها آمنة صحياً ويساهم كبر حجم خلايا الخميرة سهولة فصلها عن سائل التخمر بعد اكثارها.

ذكر Rech وآخرون,(1999) , و Inchaurrondo وأخرون,(1998) ، بأن أنزيم *(β-galactosidase)* من الأنزيمات المميزة لخميرة *K. lactis* ولكافة الخمائر اللبنية الأخرى,وأشار Numanoglu و Sungur (2004), أن احتواء الخميرة على الأنزيم من ضمن مجموعتها الأنزيمية يساعدها على مهاجمة سلاسل سكر اللاكتوز المتواجدة بغزارة في كافة المنتجات اللبنية (في المصل بشكل خاص) فيقوم أنزيم *(β-galactosidase)* بتفكيك اللاكتوز إلى سكرياته البسيطة(الغالاكتوز، الغلوكوز) اللّذين تستخدمهما الخميرة في تغذيتها كمصدر أساسي للكربون العضوي، وبهذا الشكل تتمكن خلايا خميرة *K. lactis* من النمو و التكاثر على الوسط المستخدم للإكثار (راشح مصل الجبن) من خلال إفرازها لهذا الأنزيم في الوسط التخمّري والإستفادة من سكرياته الموجودة إلى أقصى حدّ ممكن و أكد Goertz وآخرون عام 2009، أن خميرة *Kluyveromyces lactis* من الخمائر غير المقاومة للحرارة العالية ويعد المجال 30~29c° هوالأمثل وفيه يكون نشاط الخميرة أعظمياً, يؤدي إرتفاع درجة الحرارة إلى أعلى من 36c° يؤدي إلى انخفاض حاد في سرعة نمو الخميرة حتى يتوقف نموها في الدرجة 40c° وتموت نهائياً في الدرجة 45~50 c°,المجال الأمثل لـ pHهو 4.5~5.5 وتعتبر الخميرة قادرة على تحمل المجال الحمضي (3-3.5) =pH,إلاّ أنّ معدل النمو ينخفض في هذه الحالة، وتشيّر الدراسات إلى أن درجة الحموضة المثلى للتخمّر تقع ضمن المجال (4.5-5)، كما أشاروا إلى أن درجة الحرارة و pH الوسط من أهم العوامل المؤثرة على إكثار وتنمية خميرة *Kluyveromyces. lactis*,كما درس Gerba وآخرون(2002)، تطور معدل النمو لخميرة *K. lactis* بتغير نسبة الأكسجين المنحل ووجدوا أن النقص في كمية الأكسجين المنحل في وسط الإكثار يدفع خلايا الخميرة إلى ممارسة النشاط

اللاهوائي كما أن زيادة الأكسجين في الوسط تزيد من الإستقلاب في خلايا الخمائر وتنخفض كمية الأنزيمات المتشكلة وخصوصاً أنزيمات حلقة كريبس أما Goertz وآخرون (2009) فقد درسوا تأثير الشوائب الضارة في الوسط المغذي ,ولاحظوا تباطؤ نشاط خلايا خميرة *Kluyveromyces.lactis* بإختلاف هذه الشوائب وإختلاف تراكيزها ووجدوا أن حمض الأوكساليك يبطّئ النمو عند تركيز L/mg10 ويوقفه تماماً عند تركيز 1000 mg / L كما أنّ حمض الزبدة يبطئ النمو عند تركيز 5 mg /L تماماً عند تركيز 500 mg/L و كذلك وجود النتريت يبطئ النمو عند تركيز 5 mg /L ويوقفه تماماً عند تركيز 200 mg/L أمّا شواردالمعادن فلها تأثيّر مختلف بإختلاف طبيعتها كمثال النيكل يبطئ النمو عند تركيز 3 mg / L أما الألمنيوم فيبطئ النمو عند تركيز .L/mg45.

2-6- القيمة الغذائية للبروتين وحيد الخلية SCP:

(The Nutritive Value of Single cell Protein SCP)

تتحدد القيمة الغذائية للبروتين وحيد الخلية SCP بعدة عوامل بيوكيميائية كوجود العناصر الأساسية في الغذاء (سكريات ,دسم , بروتينات) ، والفيتامينات والمعادن والحموض الأمينية والألياف (Nasseri وآخرون,2011).

لقد وجدHarender وآخرون (2007),أن البروتين وحيد الخلية SCP يحتوي على كميات عالية من المعادن ومجموعة من الفيتامينات ومحتوى عالٍ من الألياف الجدول (6)، وهذه الصفة تمكن من استخدامه بشكل فعال في أغذية النباتيين، و أغذية الحمية لإحتوائه على معظم المواد ذات القيمة التغذوية العالية.

الجدول-6. متوسط التركيب من العناصر الأساسية في البروتين وحيد الخلية SCP:

العنصرمادة جافة%	الفطور	الطحالب	الخمائر	البكتريا
البروتين %	30-45	40-60	45-55	50-65
الدسم %	2-8	7-20	2-6	1.5-3.0
الرماد %	9-14	8-10	5-9.5	3-7
الحموض الأمينية Mg/ml	7-10	3-8	6-12	8-12

(Harenderوآخرون,2007)

يمتلك البروتين وحيد الخلية خواص البروتينات كتشكيل الرغاوي وخواص الإستحلاب والتهلم واحتوائه على الحموض الأمينية (Mellors وآخرون,2010), فالمحتوى البروتيني للخلايا الميكروبية عالٍ للغاية وذو قيمة غذائية عالية جداً وفقاً لكثير من القرائن الهامة، والتي تتحدد بكمية البروتينات الموجودة في الوزن الجاف من المادة (Padmaja و Balago ,1990).

وجدAbdljabbar وآخرون (2008), أن الخلاياالبكتيرية المجففة النامية على نواتج بترولية تحتوي على حوالي69% من وزنها بروتيناً، كما تحتوي خلايا الخميرة الجافة على حوالى 40-50% من وزنها على البروتين بينما تكون النسبة حوالى 20-40% فى حالة الطحالب, وعند مقارنة هذه النسب باللحوم، نجد أن اللحوم تحتوى فقط على 20% من وزنها الجاف بروتين بينما يحتوى فول الصويا على حوالى 35% بروتينات من وزنه الجاف ، و أظهرت الدراسات التي قام بها (Jay,1996)، و(Khaled وآخرون,1985),أن البروتينات وحيدة الخلية تحتوى على كل الأحماض الأمينية الأساسية (Essential Amino Acids)، وتكون فقيرة بالأحماض الأمينية الكبريتية السيستين والميثيونين، في حين أنها تظهر مستويات أفضل من الليزين كما يوضح الجدول (7).

الجدول-7. مستويات الحموض الأمينية في بروتينات بعض الأغذية:

الحمض الأميني Mg/100ml	حليب الأبقار	البيض	القمح	البروتين وحيد الخلية
الليزين	**7.8**	**6.3**	**2.8**	**7.0**
الثيرونين	**4.6**	**5.0**	**2.9**	**4.9**
الميثيونين	**2.4**	**3.2**	**1.5**	**1.8**
الكزانتين	–	**2.4**	**2.5**	–
التربتوفان	–	**1.6**	**1.1**	–
ايزوليوسين	**6.4**	**6.8**	**3.3**	**4.5**
ليوسين	**9.9**	**9.0**	**6.7**	**7.0**
الفالين	**6.9**	**7.4**	**4.4**	**4.5**
الفينيل آلانين	**4.9**	**6.3**	**4.5**	**4.4**
الهستيدين	–	–	–	**2.0**
الأرجنين	–	–	–	**4.8**

(Jay.1996)

أشار Puniya و آخرون (1995), إلى ميزة الأحياء الدقيقة بزمن تضاعفها السريع وبالتالي قدرتها على التكاثر الهائل وزيادة كتلتها بسرعة, وإمكانية إنتاجها في مختلف الظروف الجوية حيث يرتبط إنتاج البروتين وحيد الخلية بشروط من حرارة وتركيز الوسط وتوفر التهوية وعند إكثار الكتلة الحيوية تجمع وتحول إلى منتجات غذائية ذات فائدة كبيرة وتسعى تكنولوجيا التخمر إلى تحويل كامل الوسط إلى البروتين وحيد الخلية SCP ,كما ذكر الهدمي (1998), إلى أنه يمكن إنتاج مليون طن من البروتين وحيد الخلية باستخدام الكائنات الدقيقة حيث أنه يلزم لإنتاج الكمية نفسها من البروتين النباتي مساحة تقدر بـ 2 مليون هكتار فضلاًعن الظروف الجوية وطول فترة الإنتاج وتكاليف التجهيز.

وجد Yacoub و Al-Kabi (1989),أن تغذية الحملان ذات الوزن 25 كغ على عليقة حاوية على البروتين وحيد الخلية SCP الناتج من خميرة الـ *Sacharomyces cerevisiae* بمقدار 10,9,,11 % على التوالي أدى إلى زيادة في الكتلة الدهنية للحيوانات في منطقة الضلع مقارنة مع تغذيتها على عليقة أخرى غير حاوية عليه كما أدت التغذية بالعليقة الحاوية على البروتين الخلوي إلى زيادة واضحة في نسبة الرماد في اللحوم الناتجة من الحيوانات المغذاة .

2-7- الركائز والأحياء الدقيقة المستخدمة لإنتاج البروتين وحيد الخلية:

استخدمت الألكانات بادىء الأمر لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP كركيزة (وسط للنمو) في شركة بريتش بتروليوم عام 1950 وذلك بإكثار نوعين من الخمائر *Candida. tropieals* و *Candida. lipolytien* حيث استعمل NH_3 كمصدر للآزوت وآيونات المغنزيوم لزيادة الغلة و تم إنتاج 16000 طن/سنة في فرنسا و 4000 طن/سنة في إنكلترا وسمي المنتج (Toprine) وتم إنتاجه لأكثر من 12 عام وسوق المنتج كبديل لمسحوق السمك في الأعلاف وكبديل لمسحوق الحليب المنزوع الدسم في بدائل الحليب (Nasseri وآخرون,2011).

أظهرت الدراسات منذ بدايات الستينات أهمية الميتان لكونه مادة رخيصة وبدون مشاكل سمية كما في الألكانات والبرافينات كوسط إكثار للمبيضات ، وتم استعمال النترات وأملاح الأمونيوم كمصدر للنترات تبنت هذه الدراسة شركة شل الإنكليزية وبنت عام 1974 أكبر محطة لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP وفي عام1976 أوقفت الشركة الإنتاج نظراً لإنخفاض أسعار الذرة وفول الصويا بالإضافة إلى إمكانات العديد من البلدان توسيع مصادر البروتين الموجودة كما لاقت شركة شل صعوبات كبيرة لتطبيق هذا الإختراع ,(Moulin وآخرون,1983).

قام الباحثان الكنديان Ivarson و Morita عام 1982 في جامعة أوتاوا بإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP)، و ذلك بتنمية الفطر الحامضي *Scytalidium.acidophilum* على وسط محضرمن نفايات معامل الورق المعالجة بحمض الكبريت تركيز 72% في الدرجة 4 C° و المخفف بالماء حتى pH <0.1، وقد أنتج هذا الوسط سكراً بالمقدار الكافي لتنمية الفطرحيث أنه يحتوي على سكريات (الغلوكوز و الغالاكتوز و الآرابينوز) وقد بلغت كمية البروتينات الناتجة 47% من كمية السكريات الموجودة في الوسط كما أنه لم يلاحظ وجود ملوثات في البروت ين الناتج, كما أوضح Khaled وآخرون (1985)، إمكانية إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP بالاعتمادعلى ركائز كربوهيدراتية مختلفة (المصل , بقايا قشور البرتقال , المولاس الناتج عن السكر, قشور الرز , قشور جوز الهند, لب الموز والعنب والبطاطاالحلوة , بقايا الذرة والشعير,السيليلوز الناتج من الأخشاب) . والنفايات الهيدروكربونية الصناعية(المخلفات النفطية, مخلفات المسالخ) , وأشار Gerba وآخرون, (2002) و Gonzales (1996) و Mawson (1994),إلى وجود أنواع هائلة جداً من الأحياء الدقيقة قادرة على إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP وأهمهاالبكترياوالخمائرمثل *Candida* مثل *C.Krusei*، *C.Kefyr*، *C.intermedta*،وفطور ، *Torulopsis cutaneuum* أما لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) من مصل الأجبان فقداستخدمت أجناس خمائر *Kluyveromyces*,مثل *K.lactis* و *K.marxianus*.

أشار Christensen وآخرون عام(2003)، إلى قيام شركة ICI بإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP في سبعينيات وثمانينيات القرن العشرين باستخدام الميتانول كركيزة واستعمل كبادىء فطور *Methylotropha,Methphilus* واستعملت الأمونيا كمصدر للنتروجن ودعي الأسم التجاري

للمنتج(Pruteen) وقد أكدت الإختبارات السمية والمرضية سلامة المنتج لإستخدامه في التغذية كمصدر للفيتامينات والمعادن والطاقة ومصدر متوازن للبروتين حيث نافس في أهميته وقيمته بروتينات السمك الأبيض وتم إنتاج كميات كبيرة منه بلغت 60000 طن/سنة بنسبة بروتين 72%ولكن شركة ICI لم تفصح عن التكنولوجيا الهندسية الخاصة للإنتاج .

تمكن الفراجي (2006)، من إنتاج نوعين من البروتين وحيد الخلية SCP باستخدام خميرة *Sccharomyces cervisiae* وقد قام بإكثارها على أوساط من مخلفات التمور والمولاس والمصل و استعمل البروتين الناتج في تغذية أسماك الكارب العادي.

كماأظهرت نتائج الدراسات التي قام بها كلاً من Padmajaو Balago pulan، (1990) لتنمية فطرى *Aspergilluss* وفطر Trichoderma على سيلاج الشعير احتواء الكتلة الحيوية على كمية بروتين وحيد خلية قدرت بـ (200-233)غ/ل مع محتوى عالٍ من فيتامين B وغني بالأحماض الأمينية وقد بلغت الطاقة الحرارية للبروتين وحيد الخلية الناتج (2360-2450) سعرة حرارية, كما درس Singh وآخرون عام (1991), إكثار عزلة من الفطر *(Aspergillus niger AS101)* ، على وسط من مخلفات الذرة لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP وكان ناتج الدراسة احتواء الكتلة الحيوية الناتجة على نسبة 36.4% من البروتين الخام ,كما درس (1992,Ghanem), إنتاج البروتين وحيد الخلية بتنمية مزرعة مختلطة من فطر *Trichoderm arezebae* وخميرة الـ *Kluyveromyce sharkslegens*على وسط مأخوذ من لب الشوندر السكري وكان المحصول الناتج 51% بروتين من الوزن الجاف بنسبة تحويل بلغت 39% من نسبة السكر الموجود في الوسط ثم قام الباحث بحذف مستخلص الخميرة من المنبت الغذائي وتم تلقيح

الوسط بالفطر لوحده حيث بلغت نسبة البروتين 54% من الوزن الجاف بنسبة تحويل 49% من الوسط السكري, وعند تحليل البروتين الخلوي الناتج وجد أنه يحتوي على جميع الأحماض الأمينية بكميات عالية , تماثل كميات الحموض الأمينية القياسية للبروتينات حسب المواصفات القياسية لمنظمة الأغذية العالمية(FAO).

قام(1993a,Abo Hamed) بتحضير وسط غذائي يحتوي على نسب مختلفة من مخلف قش الذرة أجري عليه تحلل مائي بواسطة حمض الكبريتيك (N0.5) وزرعت عليه خميرة الـ*Sacharomyces. cerevisiae* بظروف تناسب نموها من درجة حرارة وتركيز وسط و pH وبعد إنتهاء فترة التحضين أخذت عينات من الوسط ومن خلايا الخميرة أظهرت نتائج التحليل أن أكبر كمية من وزن الكتلة الحيوية المحتوية على أعلى نسبة من البروتين وحيد الخلية تم الحصول عليها من الوسط الحاوي على نسبة السكر 15% في الجزء الثاني من البحث تم خلط الوسط مع نسب مختلفة من المولاس وتركت الخميرة للنمو على الأوساط الجديدة أظهرت نتائج التحليل أن أكبر كمية من الكتلة الحيوية الحاوية على أعلى نسبة من البروتين الوحيد الخلية كان في الوسط الحاوي على نسبة مولاس 2gr/L وفي نتيجة نهائية للبحث قرر الباحث أنه يمكن إنماء خميرة الـ *Sacharomyces cerevisiae* على وسط مختلط يتكون من قش الذرة بنسبة 15% والمولاس بنسبة 2 gr \L لتعطي أعلى ناتج من الكتلة الحيوية الحاوية على أعلى نسبة من البروتين الوحيد الخلية , كما قام (1993b,Abo Hamed) بإكثار خمائر *Sacharomyces cerevisiae* و *Sacharomyces. uvarus* و *Candida .utilis* على أوساط غذائية تحتوي على مخلفات الدجاج كمصدر وحيد للكربون والنيتروجين بتركيزات مختلفة وقد وجد أن الوسط الذي يحتوي على المخلف

بنسبة 2% كان أكثرالأوساط ملائمة لنمو وإكثار خميرة *Sacharomyces cerevisiae* و *Sacharomyces uvarus*أما خميرة الـ *Candida. utilis* فقد كان الوسط الحاوي على تركيز المخلفات بنسبة 3% أفضل الأوساط ملائمة لنموها وإكثارها.

كما درس كلاً من Bhalla و Joshi, (1994) ,إكثار مزيج من خميرة الـ *Candida* وفطر *Aspergillus niger* على وسط من مخلفات الأناناس, بطريقة التخمرات الصلبة لإنتاج البروتين وحيد الخلية الـ SCP, وكانت النتيجة الوصول إلى منتج بروتيني يحتوي على 20% من البروتين, أيضاً وفي تايلاند درس Suwanno ,(1996)، إنتاج البروتين وحيد الخلية على وسط من مخلفات سمك التونا الغير مخففة كركيزة باستخدام خميرةالـ *Candida- tropicals* مستعملاً 2% محلول غلوكوز كمصدر للكربون وتمت دراسة الشروط المثالية لنمو الفطرفي الحاضنة الهزازة ووجد أن درجة الحرارة المثالية للنمو كانت 30°C وعدد الدورات المثالية في الهزاز 130 rmp دورة/دقيقة والأس الهدروجيني للوسط 4.5= pH حيث أعطت الخميرة معدل نمو بحدود $0.89/h^{-1}$ وكمية عاليةمن الكتلة الحيوية تقدربـ 15.1gr/l مع هبوط في الأ كسجين المتطلب كيميائيا ال .COD بمعدل 84 % في نهاية التخمر بعد ثلاثة أيام وكانت نسبة البروتين في الناتج النهائي 45% والدسم 1%, أما Nigam عام (1998), فقد استعمل أيضاً وسط مخلفات الأناناس لإكثار خميرة Candida. utilis لوحدها, وقد أظهرت نتائج التحاليل الكيميائية للكتلة الحيوية الناتجة احتوائها على نسبة 55.3%من البروتين الخام و51.2% بروتين نقي و27.4%سكريات .

وجد كلاً من Duangjai و Marisa (1998) . في تايلاند في دراستهما لإنتاج البروتين وحيد الخلية من مياه معالجة البطاطا غير المخففة كركيزة باستخدام خميرةالـ *Candida tropicals*

وبدراسة الشروط المثالية لنمو الفطرفي الحاضنة الهزازة وجد أن درجة الحرارة المثالية للنمو كانت 30°C وعدد الدورات في الهزاز 130 rmp (دورة/دقيقة) والأس الهدروجيني للوسط pH =4.5 حيث أعطت الخميرة معدل نمو بحدود $0.47/h^{-1}$ وكمية 1.212gr/l مع هبوط في الـ COD بمعدل 78.97 % في نهاية التخمر كما كانت نسبة البروتين في الناتج النهائي 32.19% والدسم 0.45% , كما أجريت في البرازيل دراسات لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) على وسط نخالة الرز من قبل Anupamaa وRavindra (2000) , وذلك بإكثار فطر *Aspergillus niger* بالتخمير المستمر حيث حضر وسط نخالة الرز بإضافة هيدروكسيد الصوديوم 1% لكل لتر والتعقيم بالأوتوكلاف على 121°C وضغط 15 pas ولمدة 30 دقيقة ثم وضعت الرشاحة في المخمرولقحت بالفطر *Aspergillus niger* بوجود نترات الصوديوم كمصدر للآزوت وأعطت محصول كبير من البروتين وحيد الخلية (SCP) بمقدار 41,69% من حجم الوسط , واستعملGregorio وآخرون (2001) .مزيج من فطور *Aspergilluss niger* و*Trichoderma virida* لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP على وسط من قشور الحمضيات وتم الحصول على كتلة حيوية تحوي على 26.62 % من البروتين النقي , كما قام Baig وآخرون (2002), بإكثار فطر *Arachniotus* على وسط من المولاس لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP وقد أظهرت النتائج أن الكتلة الحيوية الناتجة تحتوي على26.55% من البروتين النقي , أيضاً Ravindar وآخرون (2003). استعملوا ثلاث عزلات مطفرة من فطر *Aspergillus oryzae* لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP باستعمال نخالة الرز كوسط تنمية وتم إضافة اللقاح بنسبة 2% وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها أن نسبة البروتين النقي المنتج 57% مع محتوى قليل من الحموض النووية لا تتجاوز 3% وكان الـpH الأمثل للنمو

ما بين (3-7) ودرس العالم Mishra وآخرون (2004)، استخدام فطر *Aspergillus niger* لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) بإكثارالفطر على المخلفات المائية لمصانع شيبس البطاطا وكانت النتيجة الحصول على الكتلة الحيوية بكمية 12.05 غ/ل وتركيز السكريات المختزلة 0.84 غ/ل, كما تمكن Rajoka عام (2005)، من إنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) على وسط محضر من الأعشاب الدائمة الخضرة (الطحالب) التي تنمو في المياه المالحة باستخدام بكتريا *Celluomons biazottea* وكان المحصول الناتج عن التخمير ذو محتوى عالٍ من الحموض الأمينية وأهمها حمض الأيزولايسين (Isoleucine), وبعدها أيضاً درس Rajoka وآخرون, عام (2006) ، استخلاص إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP بإكثار خميرة

الـ*Candida* utilis. على حبوب الرز بواسطة المزارع المستمرة حيث بلغت كمية البروتين في المنتج النهائي 32.75% , و أظهرت الدراسة التي قام بها Oshoma و Ikenebomeh (2005)، لدى إكثارهما لفطر *Aspergillus niger* على وسط نخالة الرز بطريقة المزرعة المغمورة بلوغ الكتلة الحيوية للفطر (1.95±0.03)غ/ل وبعدها درست الباحثة قشقيري (2007), إنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP)، على مخلفات صناعة التمور بإضافة المصل أو حبة البركة (الحبة السوداء) كمواد محفزة لنمو خميرة الـ*Sacharomyces cerevisiae* كل على حدا حيث عمدت الباحثة إلى إضافة المصل إلى البيئة بتراكيز من 5-45% من حجم البيئة وانتهت الباحثة إلى أن الإضافة لم تشجع نمو الخميرة أوزيادة البروتين وحيدالخلية وحدثت زيادة طفيفة عند تركيز 45% من المصل بمقدار 0.9% وهي غير ذات أثر أما عند إضافة مسحوق حبة البركة بتراكيز مختلفة إلى البيئة (2%,4%,6%,8%)، فقد وجد زيادة مضطردة في الكتلة

الحيوية بمقدار 3.1 ضعف وأظهرت النتائج الإحصائية للبحث أن معدل إضافة 2% من مسحوق حبة البركة إلى بيئة مستخلص التمور هو أفضل التراكيز لإنتاج البروتين وحيد الخلية حيث سجلت الكتلة الحيوية 68,29% من الوزن الجاف مقارنة مع باقي التراكيز الأخرى التي تم إضافتها وخلصت الباحثة إلى أن إضافة 2% من مسحوق حبة البركة أدى إلى زيادة واضحة في نمو الخميرة وإنتاج البروتين وحيد الخلية , أما Abdljabbar وآخرون (2008)، فقد قاموا بدراسة إنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) باستخدام المشتقات البترولية (الإيتانول، الكيروسين، زيت النفط) وذلك بإكثار نوعين من البكتيريا تنتمي إلى جنس الـ *Bacillus subitilles* المنماة على وسط الآغار والمعزولة من التربة وقد كانت أفضل النتائج لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP)،عند درجة حرارة 32°c و pH=5 بنسبة بروتين 61.25% وقد شكلت متغيرات درجة الحرارة والـ pH العاملان الأساسيين لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP).

كما قام Zhao وآخرون (2010) , بدراسةإنتاج البروتين وحيد الخلية من مخلفات استخلاص مسحوق الفلفل , أما Dharumadurai وآخرون (2011),فقد درسوا إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP من نفايات الأناناس كوسط وخميرة *Saccharomyces cerevisiae* وقد تم الحصول على إنتاج عالٍ لبروتين وحيد الخلية (SCP)، من النفايات الرخيصة بعد سبعة أيام من التخمير.

2-7-1- إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP باستخدام المصل كركيزة:

(Single Cell protein SCP by using Whey as Sub strate)

أوضح Parrondo وآخرون (2009), تزايدالاهتمام العالمي حالياً بعمليات إكثار الأحياء الدقيقة على مصل الجبن وخاصة الخمائر ,وذلك للحصول على منتجات مفيدة وذات قيمة مضافة

عالية مثل الكحول الإيتيلي, والبروتين الحيوي, حيث يمتلك عدد قليل من الأنواع التابعة للخمائر خاصية استقلاب سكر اللاكتوز،فمن خلال دراسة الخصائص الفيزيولوجية والبيوكيميائية للخمائر المستقلبة لسكر اللاكتوز ثبت أن الأنواع التابعة للجنس*Kluyveromyces*،والتي تمتلك القدرة على التمثيل الفعّال للاكتوزمع إنتاج الكحول بتراكيز عالية في الوسط وكذلك إنتاج كتلة حيوية بكميات مناسبة,لقد أشار Mansour وآخرون منذ (1993) ,إلى أن إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP من المصل يعتمد على تخمير اللاكتوز بالخمائرمثل *Kluyveromyces lactis* و *Kluyveromyces fagilis* تحت شروط هوائية قوية يتبعها التركيز و الفلترة للسائل و ذلك لإنتاج مركّز بمحتوى مادة صلبة (18-22) %، ثم يُسخن و يجفف و المشكلة الرئيسية في إنتاج (SCP)هي تأمين احتياطي من الأكسجين الكافي ليسمح بالتحول المادي الكافي إلى البروتين وحيدة الخلية , كما درس كلاً من Rasmy و EL-samragy عام (1986) ,إنتاج البروتين وحيد الخلية من المصل المملح الناتج عن تصنيع الجبن الدمياطي تبعتها دراسات عديدة قام بها كلاًمن EL-samragy و Zall (1988)،أكدوا من خلالها أن سلالتين من أصل تسعة سلالات من الخمائر اللبنية قادرة على استخدام اللاكتوزمن راشح المصل ذي التركيز 6% لاكتوز ووجدا أن الخمائر تستخدم فقط 34-36% من اللاكتوز عند وجود تركيزات عالية من الملح .

كما درس Barraquio وآخرون (2001) , إنتاج المتممات العلفية الغنية بالبروتين وحيد الخلية وذلك بإكثار خميرة *Pseudoteopicallis* و *Saccharomyces fragilis*،على مصل الجبن بالطريقة نصف المستمرة وتوصلوا إلى زيادة في محصول البروتين وحيد الخلية من 21.4 - 47.8 %عند استخدام تركيز متغير لسكر اللاكتوز من 8.9 - 17.8 gr كما أكدوا أن الـ BOD قد

نقص بشكل ملحوظ بعد 24 ساعة من بدء التخمر , وأظهرت نتائج الأبحاث التي قام بها Gerba وآخرون (2002), بإكثار خميرة الـ *Kluyveromyces lactis*، على المصل الكامل بتركيز لاكتوز 5-15% أن أفضل النتائج كانت على درجة حرارة 34C° والأس الهدروجيني الأمثل الـ pH =(4.5-5) وقرروا أن الخميرة مناسبة لإنتاج ا لبروتين وحيد الخلية (SCP)، في الظروف الهوائية وإنتاج الإيتانول في الظروف اللاهوائية, كما درس Hassan وآخرون (2004)، إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP وتخفيض الـ BOD للمصل فتم عزل 11نوعاً من خمائر الـ *Kluyveromyces* من M1-M11 لمنتجات مختلفة من الألبان ودرست الصفات المورفولوجية والفيزيولوجية للخمائر وتم التوصل من خلال البحث أن الخمائر M2 للجنس *Kluyveromyces* كانت الأكثر إنتاجاً للبروتين وحيد الخلية SCP بمحصول g/L11.79 بوجود كبريتات الأمونيوم كمصدر للنتروجين وعند استعمال مزرعة مختلطة من الـ*Sacharomyces cerevisiae* و M2 للجنس *Kluyveromyces* تم الحصول على كتلة حيوية للبروتين وحيد الخلية SCP بمقدار g/L22.38 وتخفيض متطلب الأكسجين الحيوي من mg/L 30000 ليصبح mg/L 3450 وهذه النسبة غير ضارة بالمجموع الحيوي , كما قام Beausejouor و آخرون عام (2009)، بدراسة إنتاج البروتين وحيد لخلية(SCP)، على راشح مصل الجبن الناتج بالترشيح فوق العالي UF باستخدام خميرة الـS*Kluyveromycesmarxianus* بواسطة المخمرالحيوي ، بالطريقة المستمرة والشروط الهوائية وتبين من خلال الدراسة أن أفضل إنتاجية للخميرة كانت على pH= 4.5 ودرجة حرارة ما بين c° 34-35, بإضافة كبريتات الأمونيوم كمصدر للآزوت لزيادة الكتلة البروتينية تم إجراء تحليل المحتوى البروتيني للكتلة الحيوية في أوقات مختلفة أثناء التخمر ووجد أن 82% من البروتين الكلي

تم إنتاجه في أول 18ساعة من بدء التخمرحتى 96 ساعة منه وأنه يمكن الإشارة إليه أنه المرحلة الأسية لنمو الخميرة .

قام Ghaly وآخرون (2004), بإكثار خميرة *K.fragilis* في المخمّر الحيوي بالطريقة المستمرة عند (pH = 3.9-5.1)، و درجة حرارة بين c°(31-37) باستخدام الراشح المركز(اللاكتوز) وكان الناتج من الكتلة الحيوية حوالي 53% من وزن اللاكتوز في المصل الأولي ويحوي المنتج (50-45)% بروتين وحيد الخلية، و (10-5)% رطوبة ، وهذا المنتج يمكن أن يستخدم صناعياً كغذاء أو عليقة للحيوانات لزيادة اللحم أو كإضافات غذائية كما أنه يظهر تأثير جانبي منخفض لحمض اليوريك و محتوى معادن و فيتامينات مرتفع .

كما درس EL-Sabaeny عام (1996)، تأثير مكونات بيئة التخمر على إنتاج (LA) LacticAcid والبروتين وحيد الخلية (SCP)، من المصل باستخدام بكتيريا*Lactobacillus.dblbrrukii subsp;bulgaricus N.309* وانتهت نتائج الأبحاث إلى أنه تمت زيادة كل من LA و SCP بزيادة تركيز المصل من 2-8% (W/V)، وأن أفضل كمية من LA تم الحصول عليها عند التركيز (8%) و pH=5.5 ودرجة حرارة 40C° بعد 24 ساعة من التخمر, وعند إضافة مستخلص الخميرة كمصدر للنتروجن و Mncl2 كعامل للنمو أدى ذلك إلى زيادة كمية LA إلى 41 gr/L والبروتين وحيد الخلية إلى 32.8% .

استخدم Anon (1975)، خميرة *Candida intermedia* لتخمير المصل, وإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP لكونها مقاومة لحموضة المصل الأمر الذي قلل الحاجة إلى تعقيم المصل وتم إنتاج ما يقارب 2300 طن سنوياً في النمسا من البروتين وحيد الخلية لإستخدامه في الإستهلاك

البشري, وأشارت الدراسات التي قام بها Moon وآخرون (1978), إلى إمكانية استخدام المصل كوسط غذائي لتنمية خميرة *Candida curvacte* ، والحصول على البروتين وحيد الخلية (SCP), أما Garcia في عام (1981)، فقد وجد أن خميرة *Sacharomyces lactis* تتفوق على خميرة الـ*Candida- curvacte* في تخميرها للمصل وقد فسر السبب بقدرة الخميرة على استهلاك سكر اللاكتوز بصورة مباشرة تحت ظروف التنمية اللاهوائية واستخدام بعض المواد البورينية كعوامل نمو مثل الأدنين.

درس (قشاري, 1997) ، كفاءة استخدام مصل الأجبان كبيئات لتنمية الخمائر وإنتاج المضادات الحيوية والفيتامينات والبروتين وحيد الخلية (SCP)، وتبين بنتيجة الدراسة أن المصل من أفضل الأوساط للحصول على الكتلة الحيوية (البروتين وحيد الخلية) ، و المنتجات الاستقلابية الأخرى كالمضادات الحيوية أو الفيتامينات وخاصة B12 وأوصى باستخدامه في هذا المجال.

قام Ghaly وآخرون (2004)، باستعمال المصل للحصول على البروتين وحيد الخلية SCP وإنتاجه باستخدام بادىء من خميرة *Kluyveromyces marxianus*، بالطريقة الدورية والطريقة نصف المستمرة.

كما قام الفراجي(2006)بدراسة تنمية مزرعة مشتركة من خميرة الـ *Sacharomyces.Cerevisiae*وبكتريا حمض اللبن *Streptococus lactis* على وسط المصل الخام مع مخلفات صناعة التمور لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) ووجد كنتيجة لهذه الدراسة أن تخفيف المصل بنسبة 50% أعطى أعلى إنتاجية للبروتين بنسبة 53.84%.

2-7-2- البروتين وحيد الخلية SCP (Single Cell Protein):

إصطلاح علمي إتفق فيه العلماء على تسمية خلايا البكتريا والفطوروالخمائر والطحالب الجافة التي تم إكثارها على مخلفات زراعية أو صناعية (هيدروكربونية أو كربوهيدراتية) ويكون ناتجها كتلة حيوية غنية بمحتواها البروتيني اسم البروتين وحيد الخلية (Single-Cell Protein) SCP ليدل على فكرة استخدم الأحياء الدقيقة كمادة غذائية للإنسان استخدم هذا المصطلح لأول مرة عام 1966 من قبل البروفسور كارل ويلسون خلال مؤتمر علمي عقد في معهد ماساشوستس التقني (Massachusetts Institute Technology) وذلك لتوضيح أن البروتين منتج بشكل ميكروبي ولتجنب فهم مصطلح أكل الأحياء الدقيقة الذي يثير النفور من قبل المستهلكين. (1977,Ware), (Nasseri وآخرون,2011).

البروتينات وحيدة الخلية SCP من الأغذية غير التقليدية وقد كانت الفكرة الأساسية لإنتاجه 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)، وينتج الـ SCP من الأحياء الدقيقة (بكتريا,خمائر,طحالب) بإكثارهاعلى مجموعة كبيرة من الركائز وتعتبرالبكتريا عالية في إنتاجها لـSCP (50-65)%، ولهامعدل 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 الغذائية الجيدة (45-55)% ، بروتيناً كما أن حجمها كبير وسهلة الحصاد وينخفض محتواها من الحمض النووي

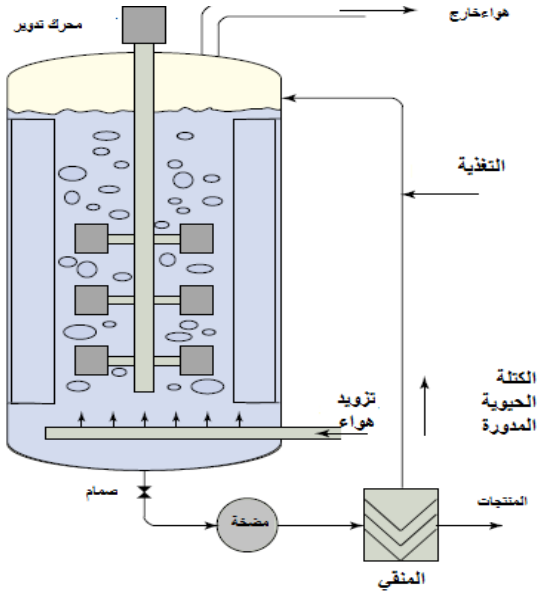
وذات محتوى عالٍ من الليزين ولها القدرة على النمو في الوسط الحمضي ومحتواها جيد من الميثونين مما يجعل البروتين المأخوذ منها مقارباً في فائدته للبروتين الحيواني وقد نالت الخمائر قبولاً شعبياً بسبب التاريخ الطويل من الإستعمال التقليدي للخمائر في كثيرمن الصناعات الغذائية (Bandura وآّخرون ,2009),(Akram وآّخرون ,2011) , أما الطحالب فلها إنتاجية عالية من البروتين الخلوي ولكن أضرارها تكمن في احتواء جدران الخلايا على السيللوز الصعبة الهضم من قبل الإنسان بالإضافة لإحتوائها على نسب عالية من المعادن الثقيلة (2007, Becker).

2-8- المخمرات وآّليات إكثار الأحياء الدقيقة:

(The Operate mode Groth of Micro organisms by Bioreacter)

أوضح كلاً من Fisher (2006)، و Liu وآّخرون (2005), الآّلية التي يتم بها إنتاج البروتين وحيد الخلية بواسطة المخمرات الشكل (7), فللمخمر وعاء يتكون من عدة أجزاء من شأنها أن تتحكم في توفير ظروف بيئية مثلى لنمو الخلايا الشكل (8), للحصول على نواتج النشاط الحيوي للأحياء الدقيقة وذلك في بيئة غذائية سائلة ومعقمة تمنع دخول التلوث من الوسط الخارجي وقد تكون المخمرات هوائية أولا هوائية(بريشة وآخرون. 2002) , كما تحتوي وحدات التخمير على مخمر أو أكثر بحسب الغرض من التصميم كما يمكن وصل المخمرات بوحدات تحكم مبرمجة وتعمل بشكل آّلي ويتم ربطها بأجهزة حاسوب متطورة تبرمج عملها وتضبطه (1999,Anthony),(Alan و 1986, Derek) .

الشكل-7 . المخمر الحيوي:



الشكل–8 . آلية عمل المخمرالحيوي.

(2006,Fisher)

2-8-1- المتطلبات التكنولوجية لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP:

(The Technology Requirements forthe Production Single Cell Protien SCP)

تتنوع الإحتياجات الغذائية للأحياء الدقيقة تبعاً للعوامل الوراثية والقدرة على تخليق عوامل النمو الأساسية من المواد الغذائية البسيطة غير أن مجمل الكائنات الدقيقة تشترك في احتياجها للماء ومصادر الطاقة والكربون والنتروجن والفوسفور والعناصر المعدنية والهدروجين والأكسجين وعوامل ومحفزات النمو (Kosikowski وGiec ,2006).

2-8-2- مصادر الطاقة (الكربون)(Energy Resources):

تؤمن الأحياء الدقيقة الطاقة اللازمة لها بواسطة عدة طرق فمنها ما يمتلك صبغات التمثيل الضوئي وهذا ما يمكنها من الاستفادة من الطاقة الشمسية (الطحالب والأشنيات) ، كما يوجد أحياء دقيقة أخرى تؤكسد المواد غير العضوية مثل الهدروجين ، والكبريت والأمونيوم ، والنتريت وأملاح الحديد(أحياء ذاتية التغذية الكيماوية) ، بالإضافة لذلك توجد الأحياء غير ذاتية التغذية حيث تحصل على التغذية عن طريق هدم المواد العضوية (بريشة وآخرون, 2002)،كماأن نفاذ العناصر الغذائية في البيئة (الركيزة) ، أو تراكم االمخلفات الخلوية يحد من الزيادة الأسية في أعداد الخلايا ولذا لا بد من إمداد البيئة بالعناصر المغذية لتحقيق المردود الأمثل من الكتلة الحيوية (Biomass)، وتأخير الوصول إلى طور الثبات (Alan وDerek, 1986) .

الكربون عنصر هام لتخليق مادة الخلية ففي الكائنات غير ذاتية التغذية تحصل على الكربون من خلال هدم المواد العضوية أما المركبات ذاتية التغذية فتقوم بالإستفادة من ذرتي الهدروجن

الناتجتين من تحلل جزيء الماء ضوئياً في رفع القدرة الإختزالية للإنزيمات التي تقوم بتثبيت ثاني أكسيد الكربون في صورة المركب Glyceraidehyde-3-Phosphate ، لهذا المركب دور كبير في بناء كربوهيدرات الخلية والإمداد بالطاقة ومركبات الكربون المطلوبة ومن أهم مصادر الكربون السكريات بأ رواعها المختلفة والمأخوذة من مصادر متعددة نباتية أوحيوانية (2000,Zayed).

2-8-3- مصادر النتروجن (الآزوت) (Nitrogen Resources) :

للأحياء الدقيقة مقدرات مختلفة للإستفادة من مصادر النتروجن المختلفة مثل الأمونيا والنترات والأحماض الأمينية والقواعد البيورينية أو البريميدينية (بريشة وآخرون,2002).

2-8-4- الماء (Water):

يعد الماء ضرورياً لحياة الخلية حيث يساعد الأنزيمات على القيام بوظائفها وتذوب فيه المواد العضوية وغير العضوية اللازمة لحياة الخلية كما يعتبر مادة التفاعل الأساسية في العديد من العمليات الإستقلابية أما في عمليات التخمر باستخدام المزرعة العميقة فالماء يقوم بإمداد خلايا الأحياء الدقيقة بالمواد المغذية و الأكسجين وتنظيم درجة حرارة الوسط كما أنه من الضروري أن يكون الماء على درجة عالية من النقاوة ومضبوط ال pH- واللون ونسبة المواد الكلية الذائبة ومحتوى الماء من الأحماض العضوية والكلور(1999,Menningmnn).

2-8-5- العناصرالمعدنية (Mineral Elemets):

تحتاج العمليات الفيزيولوجية للأحياء الدقيقة للعناصر المعدنية الجدول(8), وذلك لبناء الأنزيمات ومساعدات الأنزيمات ومن هذه العناصر ما يكون أساسياً مثل الفوسفور والكبريت والبوتاسيوم والكالسيوم والمغنزيوم والصوديوم ومنها ما يكون ثانوياً حيث أن الأحياء الدقيقة تحتاجها بكميات ضئيلة مثل النحاس والمنغنيز والزنك والكوبالت والبورون كما تحتاج الأحياء الدقيقة لمواد عضوية مثل الفيتامينات والأنزيمات (Alan وDerek, 1986) .

الجدول–8 . العناصرالمعدنية اللازمة لنمو الخمائر والأحياء الدقيقة:

العنصرالمعدني	صيغة المركب الكيميائي المستخدم
الفوسفور	H_3PO_4 أو $(NH_4)_2Hpo_4$
البوتاسيوم	KCl
المغنزيوم	$MgCl_2.6H_2O.MgSO_4$
الكالسيوم	$CaCl_2$
الصوديوم	NaOH
الكبريت	$(NH_4)_2So_4$
الحديد	$Fe(C_3H_4(OH)(COOH)_3$
المنغنيز	$MnSO_4.H_2O$
التوتياء	$ZnSO4.7H_2O$
المولبيدينوم	$Na_2MoO_4.2H_2O$
اليود	KI
النحاس	$CuSO_4.5H_2O$

(بريشة وآخرون,2002)

2-9- الطرق المتبعة لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP في المخمرات:

(The Avowed Methods for Production Single Cell Protien in Bioreactor)

بينَ Mansour وآخرون عام (1993),(Stanbuty وآخرون , 2000), أن عملية التخمر بواسطة المخمرات تتضمن مجموعة من الطرق لإكثار الخمائر والبكتريا وتختلف هذه الطرق عن بعضها البعض بكيفية تزويد المخمرات بالوسط المغذي (الركيزة) إلى المخمر وكيفية إدخال المواد المضافة للوسط وبظروف عملية التخمر والناتج المراد استحصاله ,وأشهر هذه الطرق هي التالية:

2-9-1- الطريقة المتقطعة للنمو Batch Cultivation:

هي الطريقة التي تتم دون اتصال مع الوسط الخارجي (منظومة مغلقة) أي لا يتم تزويد المجموعة بأي مواد مغذية أو مصدر طاقة كما أنه لا يتم طرح ناتج التمثيل الغذائي ويمكن أن تتم العملية في المخمر أوفي دوارق مغلقة (بريشة وآخرون,2002)

يقسم منحني النمو إلى ستة مراحل :

- الطور التمهيدي أو (طور التأقلم) Lag Phase حيث يبدأ من لحظة وصول البادىء أو الخميرة إلى الركيزة ولا يلاحظ في هذا الطور أي زيادة في عدد الخلايا .

- طور تسارع النمو الإيجابي وهو طور ثانوي وزمنه قصير جداً حيث تبدأ الخلايا بالإنقسام والتكاثر وترتفع السرعة النوعية من الصفر إلى نهاية عظمى , وأحياناً يدمج هذا الطور مع الطور التمهيدي أو مع الطور اللوغاريتمي .

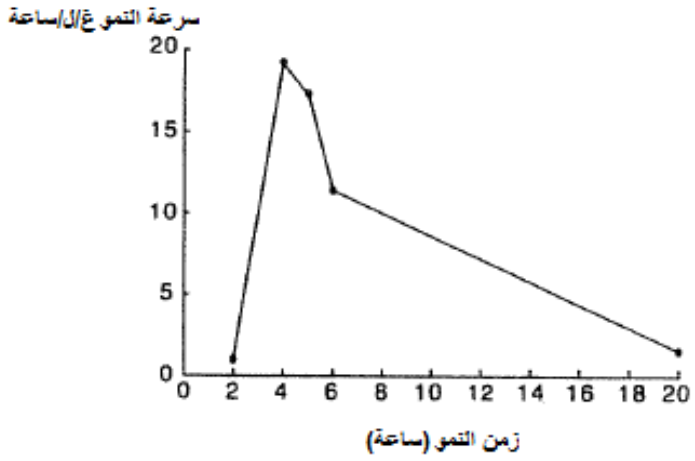
– الطور اللوغاريتمي Logarithmic Phase، تتوافر في هذا الطور في الوسط كافة المواد المغذية وتكون نواتج التخمر في أدنى قيمها والتفاعلات البيوحيوية بأعلى درجة وتكون الخلايا بحالة توازن.

– طور تسارع النمو السلبي ، وفيه تكون المواد المغذية محدودة وارتفاع في تركيز نواتج الاستقلاب الحيوي والتي تكون سامة وتحد من استمرار الطور اللوغاريتمي.

– طور الثبات والإستقرار Stationary، حيث يتميز الطور بثبات عدد الخلايا ويتطابق معدل النمو للخلايا مع معدل موتها وتظهر الكتلة الحيوية النهائية في هذا الطور.

– طور الموت يصبح في هذا الطور عدد الخلايا الميتة أكبر من عدد الخلايا المتشكلة وتتوقف بشكل كامل جميع التفاعلات الخلوية.

يعبر الشكل (9) عنى منحني النمو للطريقة الدورية بين سرعة النمو النسبية والزمن .



الشكل–9 . منحني النمو للطريقة الدورية:

(بريشة وآخرون,2002)

2-9-2- الطريقة المستمرة للنمو Continuous Cultivation:

تجري عملية التخمير في منظومة مفتوحة على إتصال مع الوسط الخارجي حيث يتم ضخ الوسط المغذي إلى داخل المجموعة بتدفق ثابت وطرح نواتج الاستقلاب إلى الوسط الخارجي وتكون الكميتان الداخلة والخارجة متماثلتان بالحجم وبذلك يكون الحجم ثابتاً ضمن المخمروهذا ما يضمن شروط قريبة جداً من الطور اللوغاريتمي أو طور التوازن (بريشة وآخرون,2002).

2-9-3- الطريقة نصف المستمرة Fed-BatchCultivation:

تتم العملية في المفاعل الحيوي(المخمر) بكمية من الوسط المغذي ومن ثم إكمال التخمر مع تدفق ثابت للوسط المغذي حتى تمام الوصول إلى الحجم الفعلي لسعة المخمر وهذه الطريقة وسطى مابين الطريقة الدورية والطريقة المستمرة وبعد الوصول إلى الحجم النهائي في المخمر والإنتهاء من إضافة كافة الدفعات من الوسط المغذي تسير عملية التخمير وفقاً للطريقة الدورية للنمو وتتابع الخلايا نموها وتكاثرها وتستمر باستهلاك واستقلاب المواد المغذية الموجودة في وسط الإكثارحتى الوصول إلى حالة الثبات ويكون عندها قد استهلكت الخمائر المنماة معظم الركيزة (طور الثبات) وتستمر العملية حتى تصل إلى الحد الذي يتوقف عنده نمو الخلايا وتكاثرها (طور الموت) ، وغالباً ما تتبع طريقة التخمير هذه في مصانع خميرة الخبز والخميرة العلفية (صادق,1993).

و لنجاح الطريقة نصف المستمرة يجب أن يكون تيار التغذية مركزاً بشكل كاف حتى لا يؤدي ذلك إلى تمدد الوسط بشكل كبير ومفاجيء إضافة إلى محدودية حجم المخمر الحيوي الأمر الذي يقوم بدوره من الحد من كمية المواد المغذية المضافة وبالتالي يجب أن يكون وقت الإضافة مدروساً ومحدداً بدقة كبيرة,(Ritzka وآخرون,1997).

أوضح (Inchaurrondo) وآخرون عام 1998و(Ramadan وآخرون,1985), أن السيطرة على مجرى العمليات الاستقلابية من خلال ضبط الشروط المناسبة (تهوية , تركيز وسط,حرارة pH ,) تؤدي إلى توجيه الخميرة لإنتاج المنتج المرغوب به (بروتين وحيد خلية أو وكحول إيتلي) كما يمكن استخدام عناصر محددة كركائز وبادئات متنوعة في الطريقة نصف المستمرة بالإضافة إلى امكانية التحكم بمعدلات استقلاب السكر والآزوت النتروجيني ومصادر الفوسفات المتنوعة وعوامل النمو ومن خلال التحكم بـ O2 والحرارة المناسبة ونسبة الإضافات يتحقق زيادة المردود في الوقت الذي تبقى فيه القيم ثابتة في الطريقة المستمرة وبالتالي تعطي عملية الإكثار أفضل المعدلات من خلال المحافظة على قيم ثابتة لـpH ودرجة الحرارة أثناء عملية الإكثار.

10-2- الأمان في استعمال البروتين وحيد الخلية (SCP) للتغذية:

(The Safety Using of Single Cell Protein For Nutrition)

أشار Chandrani و Tayathilake (2000), إلى أن البروتين وحيد الخلية (SPC) من البروتينات المرتفعة القيمة الحيويةHigh Biological Value Proteins وهي البروتينات التي تحتوي على كميات وافرة من الأحماض الأمينية الأساسية اللازمة لعمليات النمو وإصلاح أنسجة الجسم التالفة, حيث تكون مؤشرات (جودة البروتين) لهذه البروتينات مرتفعة مثل القيمة الحيوية(BV) (Biological Value),و NPU(Net Protein Utilization) فائدة البروتين الصافي والـ PER(Protein Efficiency Ratio) درجة فعالية البروتين, حيث تعتمد منظمة الأغذية والزراعة FAO بروتين البيض, كبروتين مرجعي قياسي عند تقدير جودة البروتينات نظرا لأن قيمته الحيوية BV تساوي 100الجدول (9), كما أن كل بروتين يملك قيمة بيولوجية فوق 70يكون مناسباً لحاجات النمو.

الجدول–9. القيمة التغذوية لبعض أنواع من البروتينات:

البروتين الغذائي	BV%	PER	NPU%
بياض البيض	100	3.8	94
حليب الأبقار	91	3.1	82
الكازينات	77	2.9	76
بروتينات المصل	104	3.6	92
لحم الأبقار	80	2.9	73
فول الصويا	74	2.1	61
الأرز	59	20	57
القمح	54	1.5	41
الفاصولياء	49	1.4	39

(FAO,2000)

ذكر (Urban وآخرون , 2010)، أن الحاجة اليومية من الوارد البروتيني بالحد الأدنى 0.2غ/كغ/24ساعة وبناء عليه فإن بياض بيضة واحدة يوميا يعتبر كافياً للحفاظ على التوازن الآزوتي في جسم البالغ , كما اقترحت منظمة الصحة العالمية WHO ومنظمة الأغذية والزراعة FAO عام 1973 وارداًبروتينياً يومياًيبلغ 0.57 غ لأن هذا الرقم يعطي أماناً أكبر للتوازن الآزوتي ,وفي عام 1985 اعتبرت الحاجة اليومية من البروتين 0.75غ/كغ/ 24 ساعة أو ما يعادل 50غرام من البروتين يومياً ويمكن التعبير عن الوارد الحاجة البروتينية من خلال الحريرات بحيث لا يتجاوز الوارد البروتيني 15-20%من الوارد الحروري مع مراعاة الحالات الخاصة مثل الرياضيين والحوامل والأطفال الجدول (10).

الجدول–10. الحاجة اليومية من البروتين وفق WHO وFAO

العمر	الحاجة اليومية من البروتين غ/كغ/ 24 ساعة
6-0 أشهر	2.2
12–6 شهر	2.0
3-1 سنة	1.8
6-4 سنة	1.5
10–7 سنة	1.2
11– 14 سنة	1.0
18-15 سنة	0.9
فوق 19 سنة	0.8

(FAO,2000)

أشارت دراسات Huang و Kinsella (1986)، أن الأهمية الاقتصادية للبروتين وحيد الخلية (SCP)، تكمن في استخدامه للغذاء البشري كمصدر للبروتين حيث يتم تقييم جودة نوعية البروتينات المتعددة باختبارات التغذية كاستعمال طرق تحديد معامل قابلية الهضم (TD),القيمة الحيوية(BV),فائدة البروتين الصافي(NPU), ,ونسبة فعالية البروتين(PER), وذلك من أجل بيان استعمال البروتين وحيد الخلية في الأغذية , لم يكن هناك ثمة علامات أو إجماع على وجود نوع من السمية أو العوامل المسرطنة في البروتين وحيد الخلية SCP حيث تم النظر إلى الأمر على أنه مسألة سياسية بإمتياز بسبب رفضه من جماعات حماية البيئة والخوف من منافسته لبروتينات السمك و الصويا وقد تم استخدام البروتين الناتج عن خلايا بكتيرية نامية على فضلات هيدروكربونية في كل من فرنسا واليابان وتايوان (Nasseri وآخرون ,2011).

المشكلة المطروحة في استهلاك البروتين وحيد الخلية هي وجود الحمض النووي بنسب مرتفعة وهي مشكلة معدومة في الحيوانات لقدرتها على تحويل الحموض النووية إلى حمض البول حلت هذه

المشكلة لدى الإنسان بمعالجات تعرضت لها الكتلة الحيوية كالتسخين على ° 64c لمدة لمدة 30دقيقة (Huangو Kinsella , 1986), تتراوح نسبة الحموض النووية ما بين 8-25 %في البروتين وحيدالخلية(SCP) غير المعالج, في حين لا تزيد نسبتها في اللحوم الحمراء على 2%, وفي الأسماك 2,2% وفي الكبد 4%, والمشكلة الواضحة هي أن الباحثين وجدوا أن قواعد البيورين التي تكوّن الأحماض النووية تتحول في الجسم, أثناء عملية التمثيل الغذائي, إلى حمض البول (Nasseriوآخرون,2011).

وجدSolomons (1987)، أنه بالإمكان تخفيض المحتوى من الحمض النووي بشكل تقني لكي يصبح البروتين الناتج صالحاً للإستهلاك البشري، دون أن يكون له أي أعراض جانبية وذكرأنه يمكن تخليص البروتين الخلوي من (الحموض النووية). بعدة طرق منهاما يعتمد على الاستخلاص الكيميائي, وطرق أخرى تعتمد على تحلل (الحموض النووية) بالأنزيمات, وطرق تقوم على أساس تسخين البروتين على درجة حرارة عالية, أو ما يعرف بالصدمة الحرارية .Heat shock , حين تؤدي إلى خفض مستوى الأحماض النووية إلى 1-1,8% .

لقد وجد Kinsella (1982),أن نسبة حامض البول العادية في الدم هي 1-3 ملغ/100مل, وعندما يرتفع هذا الرقم إلى 4–6 ملغ, يكون هذا نذيراً بقرب حدوث نوبة النقرس, ويمكن حدوث ذلك عندما يتغذى الإنسان بقدر وافر من البروتين وحيد الخلية (SCP), حيث يتولد في دمه الكثير من حمض البول, ثم إن أملاح حمض اليوريك تترسب في جهات متعددة بالجسم,. ولهذا استقر رأي علماء التغذية على ضرورة خفض كميةالأحماض النووية, التي يحصل عليها الإنسان في غذائه اليومي إلى الحد الآمن, وهو 2غرام لكل واحد كغ من وزن الجسم , لقدأكد Nassri وآخرون (2011

), أن الحموض النووية ليست مركبات سامة كما يتوقع البعض وهي تسبب تأثيرات فيزيولوجية في حال زيادتها عن نسبة معينة وذلك فقط في المستويات العالية من التغذية بالبروتينات.

كما أشار Ward وآخرون(1998)، أن وجود الحموض النووية في الكتلة الحيوية يحد من استخدامها في التغذية بخاصة عند وجودها بنسبة تتجاوز الـ 20% وذلك بسبب زيادتها لمستويات حمض اليوريك في الدم الأمر الذي يؤدي إلى تشكل الحصى الكلوية كما يمكن أن تؤدي زيادة اليوريك في بلازما الدم إلى الإصابة بداء النقرس ,ويحدد الاستهلاك اليومي إلى حوالي 10غ/اليوم من البروتين الميكروبي على شكل محضرات خلوية كاملة.

تمكن Kunhi و Rao (1995), من استحصال أنزيم *Nuclease* البنكرياسي من فطر *Aspergillus.candius M16*، وهو من أنزيمات التحلل وق د أضيف بشكل خارجي للكتلة الحيوية وأدى إلى تخفيض الحموض النووية بشكل ملحوظ وقد دعي هذا الأمر بالمعالجة الأنزيمية , كما وجد Steinkraus (1986),أن البروتينات وحيدة الخلية SCP المتوفرة في الوقت الحاضر من *Sacharomyces cerevisiae* المنماة على البيرة أو المولاس و *Sacharomyces uvarum* المنماة على البيرة و *Candida.utilis* المنماة على المولاس و *Klyveromyces.lactis* المنماة على المصل, آمنة بشكل عام للاستهلاك البشري أما الاستخدام كمواد علفية بالنسبة للحيوانات فهو آمن بسبب امتلاك الحيوانات عدا الإنسان لأنزيم اليوريكاز .

كماأشارت دراسات لـ Alvarez و Enriquez (1988),إلى أن إحتواء الوسط الغذائى المعد لإكثار الكائنات الدقيقة لإنتاج البروتين وحيد الخلية على فضلات صناعية أو نواتج جانبية مثل الهيدروكربونات الناتجة عن تقطير البترول ، أو منقوع الخشب الكبريتيدى المتخلف عن صناعة

الورق، المولاس، نواتج التحلل المائى للخشب قد يكون السبب المباشرفي إرتفاع نسبة السمية في الكتلة الحيوية,لقد وجد Bernhardt و Proudfoot في عام (1995) , أن مركب الفور فورال المتشكل في الخزانات المصنوعة من الحديدالغير قابل للصدأ بفعل حامض الكبريتيك المستخدم لتفكيك السكريات في وسط المولاس الناتج من قصب السكر يمنع من نمو الخمائر اللازمة لإنتاج الغذاء وقد وجدا أن الأوساط الحاوية على السكروز و الأرابينوز أو الغلوكوز يمكن أن تستخدم بشكل فعال لنمو خمائر الغذاء , إن إنتاج البروتين وحيد الخلية SCP بالإعتماد على (مصل الجبن) كركيزة وخميرة الـ *Kluyveromyces lactis* آمن فللوسط المستخدم لإكثار البروتين وحيد الخلية SCPباستخدام خميرة *Kluyveromyces lactis* راشح المصل خالٍ من الهيدروكربونات السامة ويعتمد بشكل أساسي على الكربوهيدرات النقية (سكر اللاكتوز) (2007,Becker) ,كماأن الخميرة المستخدمة *Kluyveromyces lactis* لإكثار البروتين وحيد الخلية(SCP)، ناتجة من منتجات آمنة وهي منتجات الألبان وتعد من الخمائر الآمنة (Gerba وآخرون, 2002)،إضافة لذلك تجرى على الوسط المعد للإكثار (راشح المصل) مجموعة من العمليات التحضيرية (ترشيح فوق عالي ، بسترة) تجعل الوسط نقياً وخالياً من التلوث (2001, ChungوKim), كما تجرى على البروتين الناتج معاملات حرارية وكيميائية تهدف إلى خفض نسبة الحموض النووية إلى النسب الآمنة في الغذاء (1996,Lee).

2-11- استخدام البروتينات في تصنيع اللبنة:

(Using the Protiens (SCP) in Munfacuring of Labneh)

تعريف اللبنة:

اللبنة إحدى منتجات الألبان المتخمرة الشائعة في العديد من بلدان العالم وخصوصاً في بلدان الشرق الأوسط وبلدان البلقان ، وذلك نظراً لمدة صلاحيتها الطويلة نسبياً مقارنة مع الحليب وخصائصها الحسية الجيدة وقد تنوعت طرق التصنيع من الطريقة التقليدية بتصفية اللبن الطبيعي في أكياس التصفية، إلى الطرائق التكنولوجية الحديثة باستخدام تكنولوجيا إعادة التركيب ،و استخدام الأغشية مثل الترشيح فوق العالي والحلول العكوس أو القوة النابذة(Shaker وآخرون ,2002) .

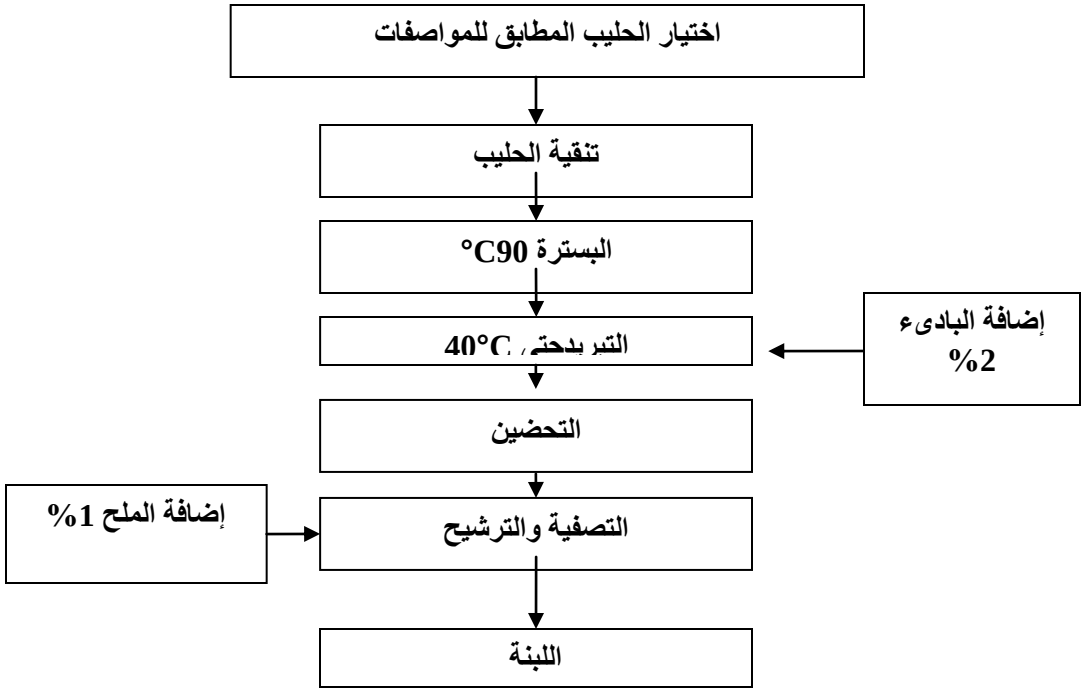
عرفّ Varnam و Sutherland (1994), اللبنة بأنهامعجون لبني ناعم ,له طعم بين طعم الزبدة والجبن الأبيض وله نكهة مميزة نتيجة وجود مركب الداي أستيل المنتج أثناء التخمير.

بينما ذكر Abou-Donia (2004) و Nsabimana وآخرون (2005),أن اللبنة (اللبن المركز) غذاء متخمر نصف صلب ومشتق من اليوغورت بإزاحة جزء من الماء والمركبات المنحلة في الماء.والمنتج له لون أبيض كريمي وقوام ناعم طري وقدرة جيدة على المد (الانتشار) وانفصال قليل للمصل ونكهة نقية وحامضية بشكل طفيف ويجب ألا تكون جافة أو حبيبية أوفيها تكتلات , كما عرفت(المواصفة القياسية السورية 1984/178) اللبنة على أنها أحد منتجات الحليب المتخمر الناتج عن تركيز اللبن الرائب المتخمر بتخفيض قسم من مائه بواسطة عملية الترشيح والتصفية وذكرت المواصفة أن اللبنة تحتوي على جوامد كلية, 35%, دسم, 10%, حموضة 1.8-2.2 وحسب المواصفات العالمية (2003,Codex) فإن اللبن المتخمر المركز هو حليب متخمر تمت زيادة البروتين فيه قبل التخمر أو بعده إلى حد أدنى 5.6 % .

2-11-1- الطرائق التقليدية لتصنيع اللبنة (اللبن المصفى):

تصنع اللبنة تقليدياً في دول منطقة البحر المتوسط فقد ذكر Al-kadamany وآخرون عام

(2002) الطريقة التقليدية الشكل (10), حيث يتم معاملة الحليب بالتسخين الحراري على 90c° لمدة خمس دقائق ثم تبرد لحدود 44c° وهي الدرجة المناسبة لإضافة البادىء بنسبة 1-2% حيث يجري تحضينها لمدة 3-4 ساعات حتى تكوين الحموضة المناسبة ثم توضع في البراد لمدة 24 ساعة ضمن أكياس قماشية لتصفى مع إضافة نسبة ملح بحدود 0.5%، وبعد ذلك تفرغ من أكياس التصفية وتعبأ في أوعية مناسبة وتخزن مبردة على حرارة 6C° , أما طريقة التصنيع وفقاً للمواصفة القياسية السورية 1984/178 فتبدأ بإختيار الحليب المطابق للمواصفات، وتنقيته بالترشيح ثم تتم عملية البسترة 90c° لمدة خمس دقائق ثم يبرد إلى حرارة 40-42c° ويضاف البادىء وبعد التحضين تجرى عملية التصفية والتعبئة وفقاً للمراحل التالية:



الشكل–10. مخطط مراحل تصنيع اللبنة بالطريقة التقليدية:

أشار Abou- donia وآخرون (1992 a), طريقة مطورة تسمى بنظام (بيرغ) حيث يفرغ اللبن الرائب الممزوج بالتحريك البارد, وكامل الدسم الطبيعي في أكياس تصفية, حوالي 25 كغ ويكدس فوق بعضه البعض, في مكبس عمودي ويوضع في غرفة تبريد ومن ثم يطبق عليه ضغط لكي يساعد في فصل المخيض وذلك لمدة 12– 18 ساعة , ويمكن أن يخفض زمن الكبس إذا تمت زيادة الضغط على اليوغورت إلى 2 كغ/ كغ و عند ذلك تكون اللبنة جاهزة للتعبئة بعد 6 ساعات . كما يمكن إجراء التصفية تحت تفريغ لتركيز اليوغورت .

درس Tamime و Robinson (1999) ,الكمية اللازمة من اللبن الرائب لصناعة 1كغ لبنة بالطريقة التقليدية فتتراوحت بين 3,3- 3,5 كغ , وعلى الرغم من شيوع الطريقة التقليدية فإن لها

العديد من السلبيات فهي بطيئة ومجهدة كثيراً وباهظة التكاليف وتعطي مردود منخفض بسبب البقايا المتروكة في أكياس التصفية وهي عرضة بشكل أكبر للتلوث بالخمائر والفطور.

أما Haddad وآخرون (2007), فقد أكدوا بأنها طريقة مجهدة وتتطلب وقتاً كبيراً فهي أيضاً تحتاج إلى درجات حرارة متحكم بها وظروف صحية كافية عند تصفية الخثرة .

2-11-2- الطرق الحديثة في تصنيع اللبنة:

تعتمد الطرق الحديثة في تصنيع اللبنة على ضبط التركيب وصولاً إلى النسبة الملائمة من الجوامد الكلية وذلك دون الحاجة لفصل كميات من المصل باستخدام إضافة الحليب المجفف كامل الدسم للوصول إلى نسبة الجوامد الكلية 30% مع كمية لاكتوز في المنتج النهائي 2-4% (Gillesو Lawrence , 1981).

أوضح Tamime عام (1993),طريقة جديدة لتصنيع اللبنة من خلال إعادة التركيب لمكونات الحليب وذلك بإضافة الحليب المجفف إلى الماء مع نسبة محددة من الدسم والمثبت والملح (اختيارياً) ويعالج الحليب بشكل مشابه لتصنيع اللبن المتخمر وبعدعملية التحضين يبرد المنتج إلى الدرجة المناسبة في غرف درجة حرارتها 5C° وكان التركيب المقترح للخلطة دسم كلي 10% , مواد صلبة لا دهنية 14.8%, ملح 0.5% , مثبت 0.8% , مواد صلبة كلية 26%.

كما أوضحت دراسات كلاً من Tamimeو Robinson عام (1999), أن الخواص الريولوجية للبنة المعادة التركيب مختلفة عن خواص اللبنة المصنعة بالطريقة التقليدية أو المصنعة بطريقة الترشيح فوق العالي .

أشارت الدراسات التي قام بها Özer و Robinson عام (2004) ,أن عملية تصنيع اللبنة بطريقة إعادة التركيب المباشر بأنها إعادة لتركيب حليب البودرة على درجة حرارة 40C° بواسطة خلاط عالي السرعة إلى المحتوى المطلوب من المادة الصلبة الكلية قبل إضافة البادىء وبعدها يسخن الحليب على 85C° لمدة 20 دقيقة وبعد ذلك يبرد إلى 42C° ويلقح بالبادىء بنسبة 2% من البكتريا اللبنية ويحضن لتكوين الحموضة المناسبة (انخفاض الـ pH إلى 4) ومن ثم تخزن اللبنة مبردة على درجة حرارة 4 C° بمحتوى مادة صلبة كلية 23 %.

أوضح إبراهيم وآخرون عام (1994), طريقة تصنيع اللبنة بالتحميض المباشر حيث صنعت اللبنة بهذه الطريقة من الحليب البقري على مستويات مختلفة من الـ p H(5 ، 4.8، 4.6)، على درجة حرارة 1 ± 5C° باستخدام حمض اللبن (88 %)على درجة حرارة 4C° ثم حفظت على درجة حرارة 1 ± 5C° لمدة 21 يوماً حيث أظهرت النتائج مايلي:

إنخفاض رقم الـ pH للحليب المحمض كما انخفضت نسبة كل من الرطوبة , الحموضة ، الكالسيوم ، الآسيت الدهيد ،نسبة الدهن في المادة الجافة بينما زادت نسبة البروتين في المادة الجافة فى اللبنة المنتجة بالتحميض المباشر عنها فى المنتجة بالطريقة التقليدية.

وانخفض التعداد الكلى للبكتريا وبكتريا حمض اللبن والبكتريا المحللة للدهون فى اللبنة الطازجة المنتجة بالتحميض المباشر عن تلك المنتجة بالبادئ .وعند زيادة مدة التخزين انخفض التعداد الكلي للبكتريا وبكتريا حمض اللبن فى حين زادت أعداد البكتريا المحللة للبروتين والمحللة للدهون ، كما زادت أعداد الخمائر والفطريات بدرجة كبيرة فى لبنة التحميض المباشر عن عينة المقارنة وقد حصلت اللبنة المصنعة بالتحميض المباشر للبن على pH= 5 على أعلى درجات

التحكيم من الناحية الحسية, كماوجد كلاً من Dagher وAli ,(1985), طريقة جديدة لصناعة اللبنة باستخدام الطرد المركزي للبن الرائب المسخن لمدة (5) دقائق بسرعات مختلفة وتم الحصول على لبنة مشابهة للمصنعة بالطريقة التقليدية حيث تتميز طريقة الطرد المركزي عن الطريقة التقليدية بتوفيرها للوقت وبأنها أقل تلوثاً بالجراثيم والفطور مقارنة مع طريقة أكياس التصفية وكانت أفضل حسياً بالمقارنة مع المنتج المصنع بالطريقة التقليدية , ولكنها أيضاً من جهة أخرى تسببت بفقدان نسبة عالية من العناصر الأساسية في الحليب ذات القيمة الغذائية العالية الموجودة في المصل بالمقارنة مع الطرق الأخرى المتطورة .

درس El-Samragy وآخرون (1997) ,تصنيع اللبنة بالترشيح فوق العالي UF حيث تم تعديل نسبة الدسم في الحليب إلى 4% ثم تسخينه إلى 50C° وترشيحه حتى نسبة الجوامد الكلية في الحليب إلى 23% , وبعد ذلك سخن لمدة 2 دقيقة على 90C° وبرد إلى 45C°, مع إضافة نسبة 0,5% ملح وبعدها لقح بالبادئ , وتم توزيعه على أوعية (250غ) وحضن على 43C° لمدة 2 ساعة لحين تشكل الخثرة وبعدها برد وخزن على 5C°. تميزت اللبنةالمنتجة بتقنية الترشيح فوق العاليUF بتحسن قابلية المد وانخفاض نسبة اللاكتوزفيها.

2-11-3- فوائد اللبنة في التغذية:

تعتبر اللبنة غذاءً طبيعياً كاملاً مشتقاً من الحليب الخام بدون أي مثبتات أو مواد حافظة كماأنها سهلة الهضم في المعدة وبالإضافة إلى ذلك فهي تحتوي على كل المكونات التغذوية للحليب مثل البروتين عالي النوعية , الدسم ، الفيتامينات الذوابة في الماء , المحتوى المرتفع من الكالسيوم والفوسفور والذي يزيد الوفرة الحيوية لهما (سليق وآخرون ,2010) .

تستهلك اللبنة بشكل واسع مع زيت الزيتون كوجبة سريعة في الفطور وفي وجبة العشاء في بعض بلدان الشرق الأوسط ولقد زاد الاهتمام بتصنيع اللبنة خلال السنين الأخيرة حيث أن خواصها التغذوية المكتشفة مؤخراً وخصائصها التخزينية أدت إلى أهميتها الاقتصادية الكبيرة,

(Mohameed وآخرون ,2004),كما وجد Özer (2004),أن اللبنة تسهم في إمداد الجسم بالمعادن والبروتينات الحيوانية والمواد الدسمة وامتصاص الجذور الحرة كما يمكن اعتبارها غذاء هام نافع لتسكين آلام المرضى وخصوصاُ الاضطرابات المعو ية وآلام القولون ومهدىء طبيعي , وبالإضافة إلى ذلك فاللبنة وجبة صحية ومناسبة للأشخاص الذين يعانون من قلة امتصاص اللاكتوز (النفور اللاكتوزي)، (EL-Samragy وآخرون 1997), (Gilliland ,1998).

كما وجد Weaver و Plawecki (1994), تواجد الكالسيوم في اللبنة وهو أمر مميز وذو علاقة كبيرة بالكمية التي ينصح بتناولها يومياً منها وأوصيا بتناول 80 غ من اللبنة يوميا ً، وأكد Marteu وآخرون (1993)، أن حمض اللبن الموجود في اللبنة يمنع النمو والنشاط الاستقلابي للبكتريا المتواجدة في بطانة الأمعاء التي تنتج الكثير من المركبات الفينولية كالسكتيول والأندول والجذور الحرة التي تؤذي الأنسجة الحية .

أشار Nsabimana و آخرون (2005)، إلى أن الخواص العلاجية و التغذوية للبنة يمكن أن تكون أفضل من خواص اللبن الرائب وذلك بسبب محتوى البروتين الأعلى بـ 2.5 مرة ومحتوى المعادن الأعلى بـ 1,5 مرة واحتواء اللبنة على كميات مختلفة من معقد فيتامين B (مجموعة فيتامينات B) ,(10,0مغ), النايسين (93,2 - 184مغ) , البيوتين (2,6 – 1,3مغ) , فيتامين B6 (36,1 – 23,5 مغ) , فيتامين B_{12} (0,29– 0,21 مغ) , حمض الفوليك (5,2 –3,7

مغ), كما أشار Eberhard وAlbrecht (2007), إلى أن تناول اللبنة يقلل من نسبة سلفيد الهيدروجين وهي المادة المسؤولة عن الروائح الكريهة في الفم في 80%، من الحالات التي أجري البحث عليها وهذا راجع إلى بكتريا البادئ المحبة للحرارة *Streptococus thermophilus* بالإضافة إلى البكتريا العصوية،*Lactobacillus bulgaricus* .

2-11- 4- إضافة البروتينات إلى اللبنة:

قام كلاً من (El – Samragy وآخرون,1997) و(Mahfouz وآخرون,1992)، بدراسة مزج مركزات بروتين المصل (WPC)، مع الحليب المحتجز بالترشيح فوق العالي (22% جوامد كلية) بنسب 5 ، 10 ، 15% لإنتاج اللبنة باستخدام معاملة حرارية 80C° لمدة 1 ، 5 ، 20 دقيقة فأدى ذلك إلى تحسين القوام، وتقليل انفصال المصل وكان له قبولية نوعية، وأثر بشكل طفيف على التركيب الكيميائي بغض النظر عن مدة المعاملة الحرارية.

درس Al-Otaibi (1997)، إضافة المركزات البروتينية الناتجة من المصل إلى الحليب المخصص لصناعة اللبن الرائب وقارنها مع إضافة كازئينات الصوديوم حيث أدت الإضافة إلى تحسين الخثرة واللزوجة وزيادة الجوامد الكلية ومحتويات البروتين وتقليل انفصال المصل في اللبن الرائب وقد كانت كازيئينات الصوديوم أكثر فعالية في هذا المجال من المركزات البروتينية مما أدى إلى تحسين صفات اللبنة الناتجة من اللبن الرائب.

أكدت دراسات (Karthikeyan وآخرون,1996) و(Al-Kanhal، 1993) إلى أن استبدال إضافة 2% من كمية حليب البودرة المقشود بمركز بروتين المصل WPC أدى إلى تحسين قوام اللبن الرائب الجامد, الأمر الذي أدى بدوره إلى تحسين صفات اللبنة الناتجة عنه بشكل عام . كما

درس Tamimeو Robinson , (1999)، استخدام بودرة بروتين المصل لتدعيم مزيج اللبن الرائب بنسب بين 0,6 -4% وأظهرت النتائج أن كمية أكبر من الأست ألدهيد أنتجت وزادت اللزوجة وقل انفصال المصل وتحسنت الخواص الحسية في اللبنة الناتجة.

و أكد (Gonzalez-Martinez وآخرون,2002) أن استخدام بودرة المصل لتدعيم أنواع اللبن الرائب المخصص لصناعة اللبنة, أدى إلى تحسين الصفات الحسية للبنة المنتجة , حيث أنه أبطئ التحميض خلال التخزين ،وأعطى تجانس أكبر ،ومنع تشكل التكتلات وأعطى قوام هلامي أكثر نعومة عند مقارنتها باللبنة المصنعة باستخدام حليب بودرة مقشود، وحسياً تم تفضيل المنتج الذي يحوي على 3,6- 5,2 % من بودرة المصل المضاف.

2-12- استخدام البروتينات في صناعة الأجبان القابلة للمد:

(Using the Protiens in Manufacturing of Spread Chesse)

2-12-1- الجبن المطبوخ االقابل للمد Spread Cheese :

تضيف الأجبان إلى مائدة الإنسان المعاصر, عنصر التنوع والتلذذ بالنكهة، وهي أيضا مادة مهمة للمستهلك , ودخل يعتمد عليه في الأماكن التي يمكن فيها تربية الحيوانات المنتجة للحليب ,كالأبقار والأغنام (هدّال،2011), (Abou-Dona, 1991).

عرفت كلاً من منظمة الصحة العالمية WHO ومنظمة الأغذية والزراعة العالمية FAOأن الجبن هو المادة الطازجة أو المسواة التي نحصل عليها بعد تخثر وفصل المصل من الحليب أو القشدة أو الحليب الفرز جزئياً أو خليط منها ويوجد أكثر من 500 نوع من الأجبان منتشرة في العالم, (Carunchia وآخرون ,2003).

يعد الجبن المنتج الحيواني الرئيسي في العالم وذلك حسب منظمة الزراعة والأغذية (FAO) ومنظمة الصحة العالمية WHOحيث أن الإنتاج العالمي من الجبن لعام 2004 كان يفوق(8) مليون طن وهو أكثر من إنتاج القهوة والشاي والكاكاو والتبغ ويزود الجبن الجسم بحصة عظيمة من الكالسيوم والبروتين والفوسفور فعلى سبيل المثال تحوي 30غ من جبن الشيدر على 7غ من البروتين و200ملغ من الكالسيوم بينما نحتاج لـ 200غ من الحليب لنحصل على كمية معادلة، وكماأن الجبن ذو فعالية في تقليل الإصابة بأمراض القلب ويؤدي تناوله في الوجبات الغذائية إلى تهدئة الأعصاب ومنع التسوس (2005,USDA) الجدول (11) .

أكد Hynes وآخرون عام (2003)، أن الجبن من الأغذية الهاضمة بسبب امتصاصه الحموضة الزائدة في المعدة ولذلك فهو يخفف من الاضطرابات الهضمية ويعطى الجبن قي حالات الضعف العام والسكري والتهاب الأمعاء الحاد ويمنع الجبن و بخاصة الجبن المطبوخ في حالات ارتفاع الضغط العام وأمراض الكلى , ولازالت الأجبان تتصدر قائمة أهم منتجات الألبان في معظم دول العالم، من حيث الزيادة المستمرة في كمية الحليب المستخدمة في صناعة الجبن على مستوى العالم.كما في الولايات المتحدة حيث تضاعفت كمية الإنتاج خلال الخمس وعشرون سنة الأخيرة , (Johnsonو Lucey,2006) .

الجدول-11. أكثر الدول عالمياً في إنتاج الجبن USDA:

البلد	الإنتاج مليون /طن
25الاتحاد الأوربي	6,500
الولايات المتحدة الأمريكية	4,140
البرازيل	480
مصر	445
الأرجنتين	400
استراليا	375

(2005,USDA)

ظهرت صناعة الأجبان منذ عهود موغلة في القدم كوسيلة لحفظ الحليب وأول من وصف بالتفصيل صناعة الجبن Columella عام 50 ميلادي، وقدم النصائح اللازمة لإنتاج حليب صحي خلال مراحل الإنتاج المختلفة، وفي عهد الإمبراطورية الرومانية (200–300 م يلادي) شُجعت صناعة الأجبان عن طريق إعطاء أسعار مجزية لهذه المنتجات(Foxو Mcsweeney ,2004).

انتقلت صناعة الأجبان في منتصف القرن التاسع عشر إلى الولايات المتحدة الأمريكية، كما اكتشفت في هذا القرن أيضاً أنزيمات المنفحة من قبل Hawmersten عام 1873م.

الجبن المطبوخ القابل للمد من أنواع الأجبان التي يتم تصنيعها من مزج أنواع مختلفة من الأجبان حيث يتم فيه الحصول على الطبيعة السائلة الغروية للكازئين باستخدام الحرارة (الطبخ) Processing, وذلك بسبب حدوث تبادل أيوني ناتج عن فعل أملاح الاستحلاب مع الحرارة حيث تؤدي عملية الطبخ إلى تحويل البارا كازئين غير الذائب الموجود على شكل هلام بمساعدة ملح الاستحلاب (الصهر) المناسب والحرارة المناسبة إلى صورة سائلة ,ثم تتحول الكتلة السائلة أثناء تبريدها وبتأثير قوى البلمرة الناجمة عن خفض الحرارة إلى حالة متماسكة تختلف عن الحالة الهلامية الأصلية حيث تتميز بنعومتها وبتجانسها طبيعياً وكيميائياً وميكروبياً

(Carunchia وآخرون , 2003) , (النمر,2003).

قام العالم (Walter Gerbar)، بتصنيع الجبن المصهور القابل للمد لأول مرة في سويسرا عام 1911 م حيث تمت معاملة جبن الإيمنتال بالتقطيع إلى شرائح والتسخين على درجة حرارة 80C° مع التحريك المستمر بإضافة محلول سترات الصوديوم كأملاح صهر (عوامل استحلاب), (1985,Shimp), ثم استخدمت الولايات المتحدة عام 1917م بنجاح مزيج من أملاح السترات واورتوفوسفات الصوديوم، ومع بداية عام 1930م استخدمت أملاح بولي فوسفات الصوديوم ويعود ذلك لإمكانية تغيير صفات الأجبان ، بتغيير طول السلسلة حيث يتم الحصول على قوام مختلف باختلاف أملاح الفوسفات المختارة (1993,Caric).

كانت صناعة الجبن المطبوخ حتى عام 1929م محصورة في إنتاج جبن القوالب المطبوخ والجبن المطبوخ القابل للتقطيع إلى شرائح وفي عام 1929م تمكن Jahann من تسجيل براءة اختراع لإنتاج الجبن المطبوخ القابل للمد باستعمال أملاح الصهر المكونة من الفوسفات المتعددة كعامل استحلاب وكان لها القدرة الكبيرة على إذابة البروتين حيث أن عملية الطبخ بوجود الأملاح الصاهرة المحلبة والحرارة والتحريك تحول الباراكازئينات الهلامية غير الذائبة إلى الحالة السائلة

وتعود إلى التحول إلى هلام متماسك عند التبريد مرة أخرى ونحصل بذلك على نوع جديد من الجبن لايشبه الجبن الطبيعي المستخدم (1973,Mayer), و تختلف الأجبان المطبوخة القابلة للمد بأنها لاتصنع مباشرة من الحليب وإنما من مزيج من الأجبان الطبيعية الأخرى (الجافة,نصف الجافة ,المنضجة), مع إمكانية إضافة مدعمات غذائية أخرى وتتميز الأجبان المطبوخة بطول مدة حفظها وقصر مدة تصنيعها وتجانسها (Fox وآخرون ,2000).

ذكر Chamber وDaurelles (2000) ,أنه بالإمكان تصنيع الأجبان المطبوخة القابلة للمد بدءاً من الأجبان الطبيعية ذات درجات الإنضاج المختلفة (الشيدر,الإيمنتال, الإيدام,الغودا) مع أملاح الصهر وتدعيمها بإضافات غذائية أخرى مثل البروتينات والزبدة والمواد الملونة والماء والملح وأجبان سبق طبخها , كما استعملت الجبنة البيضاء المحفوظة في محلول ملحي واللبنة في إنتاج جبن مطبوخ قابل للمد وقد كان المنتج ذو خصائص حسية وكيميائية وميكروبية جيدة (طوقان وآخرون, 1998), وتلعب مجموعة من العوامل دوراً هاماًفي صفات الجبن المطبوخ القابل للمد الناتج مثل نوع وكمية وعمر الجبن المستخدم وعلى العموم فالجبن حديث التصنيع

(Young Cheese) الذي يتميزبسلامة الشبكة الكازيئينية يعطي طعم مميز وجودة أفضل (النمر,2003).

ذكر (1982,Kosikowski)، أنه وكشرط أساسي للحصول على جبن مطبوخ قابل للمد وذو نوعية وصفات حسية ممتازة فإنه يجب استخدام أجبان ذات نوعية عالية الجودة، كما أكد أن العيوب الحسية التي تظهر في الجبن المطبوخ القابل للمد ، تعزى لاستخدام أجبان ذات جودة متدنية ويعتمد قوام الجبن المطبوخ القابل للمد بشكل كبيرعلى مستوى الكازئين الفعال (Intact Casein)، الذي يعبر عن كمية الكازئين التي لا تتحلل بواسطة الأنزيمات أثنا عملية الإنضاج وهو الكازئين القادر على بناء الشبكة البروتينية حيث تصل نسبته في الأجبان الطازجة مابين 90-95% ، وتنخفض هذه النسبة بتقدم العمر في الجبن ويعبرعنه بالنسبة بين الآزوت غير الذائب والآزوت الكلي ويعتبر الحد الادنى منه 12% من الكازئين غير المتحلل الواجب توافره في المنتج النهائي للحصول على قوام ثابت (,1993,Caric).

بينت دراسات (1985,Shimp)، أن نوعية وكمية ملح الاستحلاب المستعمل تعتمد على نوع وعمر الجبن المستعمل والمواصفات المطلوبة في المنتج النهائي حيث تقوم أملاح الصهر والاستحلاب بإيقاف فاعلية الكالسيوم ثنائي التكافؤ في النظام البروتيني وتفرقة التجمعات الجزيئية وفرد الإلتواء الجزيئي للبروتين وزيادة امتصاصه للماء وبالتالي انتفاخه وعلى أساس ذلك فعند استعمال أجبان حديثة التصنيع والتي تتميز بمستوى مرتفع من روابط الكالسيوم تكون الحاجة إلى كمية أكبر من الأملاح.

درس الخلايلة وطيفور (2011), تصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد باستخدام الأجبان المحلية (البيضاء, القشقوان , القريشة) كمواد أولية , وقد كان الجبن الناتج ذوخصائص حسية وكيميائية

جيدة وكانت أفضل الخلطات تلك التي احتوت نسبة من المادة الجافة 38.6 % ونسبة الدسم بالمادة الجافة 53 %.

2-12-2- إضافة البروتينات إلى الحليب المخصص لصناعة الجبن القابل للمد:

تقوم البروتينات الموجودة في الحليب بدورهام أثناء تصنيع الأجبان فتعمل الشبكة الكازيئينية بحجز المادة الدسمة وإعطاء القوام المطلوب , تصنع الأجبان المحتوية على مركزات بروتينات المصل بطريقة إعادة مزج بروتينات المصل (Centri –Whey)، حيث تفصل المادة الدسمة من المصل الناتج عن صناعة الجبن ثم يحمض ويسخن حتى الغليان لترسيب بروتينات المصل , بعدها تفصل بروتينات المصل بالطرد المركزي , وبذلك نحصل على مستحلب يحتوي على 15% مادة صلبة كلية و 5% لاكتوز حيث تضاف هذه المادة إلى الحليب المستخدم لصناعة الجبن وتعدل نسبة الدسم بإضافة كمية من القشدة واستعملت هذه الطريقة لإنتاج أجبان السان بولان والكاممبرت(طيفور،1988), و تزيد طريقة إعادة مزج البروتينات المردود بحدود 10-14% وتخفض من زمن الإنضاج وتقلل من كلفة التصنيع (مهنا, 2002).

بدأ العلماء في عام 1993م باستخدام البروتينات في صناعة الجبن حيث تمت إضافة مركزات بروتينات المصل لأول مرة في صناعة جبن الموز وريلا (Fox وآخرون،1996) .

لقد جرت محاولات عديدة ناجحة من قبل (1990,Banks)، لاستخدام المركزات البروتينية في صناعة الأجبان لمحاولة تحسين وزيادة المردود للجبن الشيدر المصنع من الحليب المحتوي على بروتين المصل المتخثر حرارياً وفي هذه الدراسة نجح الباحث في زيادة مردود الجبن بحوالي 7.5% ووصف نفس الباحث طريقة لصناعة الجبن الشيدر تعتمد على حجز بروتينات المصل في الحليب

بهدف زيادة المردود، كمادرس (Jameson و Lelievre ,1996)، تأثير إضافة بروتينات المصل على خصائص الجبن المصهور القابل للمد ووجد أن تأثيره يعتمد على نوعية الجبن و نوعية الإضافة وعلى طبيعة البروتين في صورته الخام أو المتخثرة, ثم اكتشف (Madsen، 1997)، أن لبروتينات الالفالاكتا ألبومين وبيتا لاكتو غلوبيولين القدرة على مقاومة أنزيمات الكيموزين وبكتريا البادىء وبالتالي لا تتراكم كالحموض الأمينية الصغيرة أثناء صناعة الموزريلا.

درس Henning وآخرون (1999) , دمج مركزات بروتينات المصل WPC مع الحليب المخصص لصناعة الجبن بنسب تتراوح بين (2-5) %، لتحسين مردود جبن الموزا ريلا ,حيث يسخن المصل إلى 95C° و pH=4.6 ، وبعدها يتم إزاحة المصل بالترشيح فوق العالي ومن ثم مجانسة المركزات مع الحليب الكامل مما أدى إلى إنتاج جبن ذو قوام جيد وقل الاحتفاظ بالدهن في الجبن,كما أدى التجنيس إلى تحسين القوام و إعطاء مردود عالٍ من الجبن وخواص مشابهة لخواص جبن الموزريلا مع زيادة في المادة الصلبة اللادهنية.

كما درس Rodriguez وآخرون (1999), استخدام تقنيات التركيز بالغشاء Ultra Filtration لتصنيع الأجبان البيضاء المحتوية على بروتينات المصل ووجد أن الأجبان الناتجة ذات صلابة عالية على الرغم من ظهور التركيب الاسفنجي فيها.

2-13- مردوداللبنة و الجبن والعوامل المؤثرة عليه:

إن تصنيع اللبنة بالطريقة المباشرة يزيد من المردودبشكل كبير وتعتبر هذه الطريقة معقولة جداً واقتصادية للغاية نظراً لاستخدام جميع مكونات الحليب وعدم طرح الماء منه.

أشار Amer وآخرون (1997)، إلى زيادة مردود اللبنة الطازجة بزيادة المادة الصلبة الكلية في الحليب يرافقه انخفاض بمحتوى الدسم في المادة الجافة كما ذكر وجود علاقة عكسية بين الـ pH والمادة الصلبة الكلية حيث أن زيادة المادة الصلبة تمنع الزيادة غير المرغوبة في الحموضة وتعطي مردوداً أعلى في واحدة الزمن .

كما أشار Shaker وآخرون (2002), إلى أن إنخفاض الـ pH يؤثرسلبياً على المردود وأن أخفض قيمة للمردود كانت عند (pH=4),حيث أن للحموضة تأثير واضح في إماهة مذيلات الكالسيوم في الكازئين , كما أن مردود الجبن المطبوخ ثابت وتام وذلك بسبب استخدام جميع المكونات الداخلة في تصنيعه وكونه حل مثالي لمشكلة فساد بعض أنواع الجبن في مصانع الأغذية (Neocleous وآخرون , 2002).

تتحدد الصفات الهامة للجبن من حيث القوام والتركيب البنائي بتركيب الحليب, والمعاملات التكنولوجية التي يتعرض لها أثناء صناعة الجبن, والتي تساعد في إنتاج أنواع مختلفة من الجبن (شحاتة،1997)، (زيدان، 2004)، ويمكن تعريف مردود الجبن الطازج المصنع من الحليب (Yield)، بأنه عدد الـ(كغ) من المنتج المستحصل عليه من 100 كغ حليب ويرمز له بـ (Y) (2003,Fox).

أوضح Guinee وآخرون (2006),أنه للعديد من العوامل تأثير في المردود وخاصة التركيب الكيميائي للحليب وتعد نسبة البروتين والدهن في الحليب من العوامل الرئيسة التي تحدد محصول

الجبن المنتج, وأشارت دراسات Bruhn و,Frank ,(1991) و Fox وآخرون,(1996) أن المردود يزداد في فصل الخريف, وينخفض في فصل الربيع ويصل الفرق في الكمية إلى نحو (10%)، لقد وجد Bonczar وآخرون (2001), الدور الأهم يعود لبسترة الحليب إذ أنها تؤدي إلى حدوث تفاعل بين بروتينات المصل، و الكازئين والتي تؤدي لزيادة ملحوظة بمردود الجبن ، وتصل هذه الزيادة إلى (8 %) في الجبن الطري والى (5 %) في جبن التشيدر على أساس المادة الجافة ، كما أن بعض العوامل تؤثر بشكل سلبي مثل مرض التهاب الضرع والذي يؤدي إلى انخفاض المحتوى من الكازئين في الحليب الناتج ,حيث تكون نسبة بروتينات المصل أعلى مع انخفاض الكازئين واختلال التوازن الملحي مما يؤدي إلى صعوبة عملية التجبن, وانخفاض في محصول الجبن الناتج (O'Learyوآخرون, 1983).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3 -المواد وطرائق البحث MATERIALS AND METHODS:

3-1- المواد والأجهزة المستخدمة Materials:

3-1-1- المصل الخام (Raw Whey):

تم الحصول عليه من أقسام الجبن العكاوي في شركات القطاع العام في حمص ودمشق ,وهو مصل ناتج من تجبن أنزيمي لذلك فهو يعتبرمصل حلو.

3-1-2- راشح المصل Permate :

تم الحصول عليه بطريقتين الأولى بجهاز الترشيح فوق العالي على المصل المأخوذ من شركة ألبان حمص والثانية بإجراء التخثيرالحراري لبروتينات المصل والتنقية بالمرشحات العادية وأجريت على المصل المأخوذ من شركة ألبان دمشق وأضيفت المواد المغذية بنفس النسب لكلا النوعين من راشح المصل وتم تركيزهما بالتبخير للحصول على التركيز المناسب من اللاكتوز.

3-1-3- سلالة نقية للخميرة *Kluyveromyces lactis* 42-K:

تم الحصول عليها من كلية الهندسة الكيميائية والبترولية والتي استقدمت من بنك السلالات المكروبيولوجية في معهد الميكروبيولوجيا والفيزيولوجيا أكاديمية العلوم القومية الأوكرانية , حيث تم إكثارها على وسط زرعي مناسب في أنابيب معقمة.

3-1-4- جهاز الترشيح فوق العالي UltraFiltration:

المخبري الموجود في مخابر كلية الهندسة الكيميائية والبترولية حيث تم إجراء تجارب تنقية المصل من الدسم و البروتينات المعيقة لنمو خميرة *Kluyveromyces lactis* باستخدام جهاز الترشيح فوق العالي التجريبي المبين في الشكل (11).

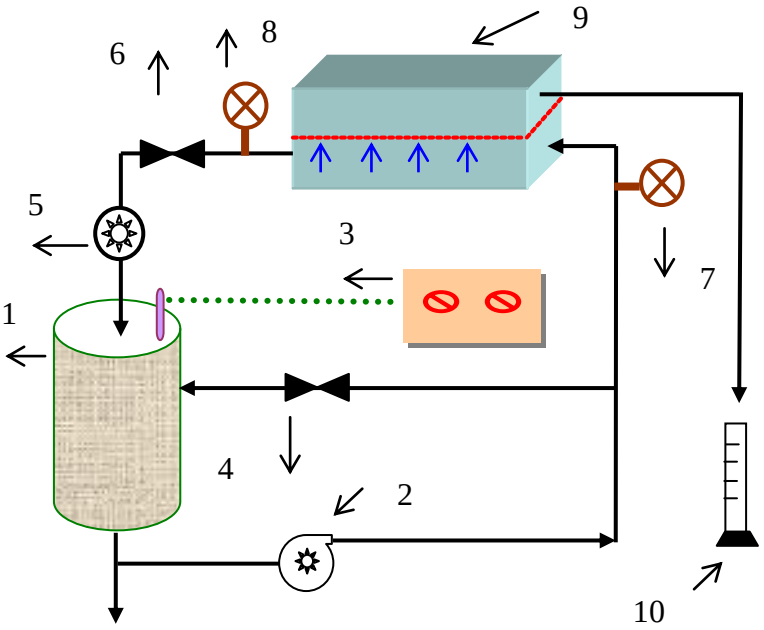
مواصفات الغشاء ذي الرمز SP015A:

لإجراءالترشيح فوق العالي بهدف فصل الدسم والبروتين عن المصل، وفق المواصفات الموضحة في الجدول (12).

الجدول–12. مواصفات غشاء الترشيح فوق العالي:

مواصفات الغشاء	
الرمز	**SP015A**
معامل القطع	**15-20kDa**
الشركة المصنعة	**Zoltek Rt. MAVIBRAN**
المادة الأولية	**بولي إيتر سلفون** **وبولي بروبلين**
مساحة السطح	**160 cm^2**
شروط العمل	**P = 6 bar,T = 0-60°C** **pH = 1-13**
معدل ترشيح الماء	**900 $L/m^2.h$, (T=25°C, P=4bar)**

(عطرة,2000)



الشكل–11. جهاز الترشيح فوق العالي المخبري

(عطرة,2000)

1 . خزان التغذية , 2. مضخة التدوير ,3. منظم حراري , 4. صمام التدفق , 5. عداد التدفق ,6. صمام الضغط 8.7. مقياس ضغط, 9. وحدة الترشيح,10 . سيلندر

3-1-5- المخمر الحيوي:

تم إجراء تجارب إنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP)، بواسطة وحدة تخمير تجريبية (Bioreactar)، نموذج (electrolab) (منشأالسويد) سعة 10ليتر في مخابر هيئة الطاقة الذرية قسم البيوتكنولوجيا الجزيئية وهي 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 الـpH: 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.

استخدمت في الدراسة الأجهزة المبينة في الجدول (13)

الجدول–13. مواصفات غشاء الترشيح فوق العالي:

الجهاز	الشركة-المنشأ
حاضنة الهزازة **Incubater**	Scientific-Make -India
جهاز قياس العناصر الذرية مطياف الكتلة - **Fluorometer**	Vicam series-4 -USA
حمام مائي **Water Bath**	Julabo -Germany
مقياس الأس الهيدروجيني **pH meter**	Corning - U.K
مجهر ضوئي **Microscope**	Kruas -Germany
ميزان حساس **Sensitive Balance**	Mettcertoledo -Switzerland
جهازالصاد الموصد(المعقم) **Autoclave**	Laqbtech -Korea
مازج **Vortex**	Labinco -Netherlands
مقياس بريكس	Scientific-Make -India
غرفة عزل مزودة بالأشعة فوق البنفسجية **Leminar Flow**	K&H Industries -Syria
جهاز قياس البروتين (كلداهل)- قسم علوم التربة	Vicam series-4 -USA
جهاز قياس الدسم (سوكسليت) الهيئة العامة للبحوث الزراعية	Shimazu -Japan
خلاط كهربائي **Mixer**	Medingen -Germany
مبخر دوراني **Rotary Evaporater**	Boachner -Germany
خلاط كهربائي **Blender**	Waring -USA
طاردة مركزية الهيئة العامة للتقانة الحيوية	Scientific-Make -India
جهاز تقديرالرطوبة بالأشعة تحت الحمراء	(Sartrorius MA35)
جهاز الريفراكتومتر	Kruas -Germany
مطحنة	Wattar
مرمدة	JRAD
جهاز تجفيف -كوري	JSR-JSON- 100 -

2-3- طرائق القياس Methods:

أجريت مجموعة من التحاليل على المصل الخام و الراشح الغني بسكر اللاكتوز ومن بعد ذلك أُجريت التحاليل على البروتين وحيد الخلية (SCP).

3-2-1- التحاليل الكيميائية للمصل وراشح المصل:

المادة الصلبة الكلية: تم تقدير المادة الصلبة الكلية وفق طريقة الـ (AOAC ,2002).

تقدير الحموضة المعايرة : تم تحديد الحموضة المعايرة معبراً عنها كحمض لبن وفق (AOAC ,2002).

يعبر عنها بعدد الميليترات من محلول ماءات الصوديوم NaOH (0.1N)، اللازمة لتعديل 100ml من المادة المراد معرفة حموضتها ويعبر عنها بالقانون:

$$\text{النسبة المئوية للحموضة\%} = \frac{\text{عدد مللترات ماءات الصوديوم} \times \mathbf{0.009} \times \mathbf{0.1N}}{\text{وزن العينة}} \times \mathbf{100}$$

تقدير نسبة اللاكتوز باستخدام جهاز الرايفراكتومتر:

يعتمد مبدأ الطريقة على انحراف الشعاع الضوئي عند مروره في وسط عن مساره المستقيم بزاوية معينة يختلف مقدارها تبعاً لمواصفات الوسط الذي يعبره الشعاع(الباقوني ومطانيوس,1996).

طريقة العمل: يؤخذ 5 مل من الحليب أو المصل في أنبوبة إختبارويضاف إليه 5-6 نقاط من محلول كلور الكالسيوم 4% ويسد الأنبوب بالسدادة الخاصة به تقرأ قرينة الإنكسارفي الدرجة 17.5 C° وتحسب نسبة اللاكتوز باستخدام الجداول(الملحق4).

تقدير الدسم: تم تحديد محتوى الدسم بواسطة طريقة جربرفي الحليب وطبقت على المصل وتم استخدام أنبوب جربر الخاص بالحليب (سليق وآخرون,2009).

درجة الـ pH: باستخدام مقياس pH متر, حيث قيست درجات الـ pH على درجة حرارة 20 ±0.05 وذلك بعد التحضين مباشرة (Eberhard وAlbrecht, 2007).

تقدير نسبة البروتين بطريقة سورنسن (للمصل):

تمتاز هذه الطريقة بسرعتها وسهولة إجرائها حيث طبقت فقط لمعرفة مدى كفاءة عملية الترشيح فوق العالي وعملية التخثيرالحراري لتخليص المصل من البروتينات المعيقة للتخمر تعتمد هذه الطريقة على السلوك المذبذب للأحماض الأمينية عند تغير حموضة الوسط الموجودة فيه, نظراً لاحتوائها على مجموعة حامضية وأخرى أمينية قاعدية.

المواد الكيمائية المستخدمة أثناء الدراسة والمواد المغذية المضافة للمصل المعد للإكثار:

محلول 2% ماءات الصوديوم اللازم لتنظيف المرشح الغشائي, محلول 4%، كلور الكالسيوم لإجراء اختبارات تحديد اللاكتوز , كبريتات الأمونيوم $(NH4)2\ So_4$،فوسفات ثنائية الأمونيوم $(NH4)2Hpo_4$, كبريتات المغنزيوم $MgSo_4$,محلول ماءات الأمونيوم $(1N)NH_4OH$، لتعديل الحموضة الزائدة لوسط الإكثار.

3-2-2- الطرائق المخبرية لإنتاج البروتين وحيد الخلية SCP:

الطريقة (1): باستخدام الحاصنة الهزازة Incubater

صممت التجربة لتعيين الشروط المثالية التالية ,تركيز الوسط(اللاكتوز)،الـ pH ،الحرارة ،زمن التخمر،عدد الدورات), وذلك بتغيير قيمة العامل وتثبيت قيمة بقية العوامل وفق عدد من المكررات لكل من الكتلة الحيوية , والمردود حيث تم تعبئة ال دوارق المخروطية بـ50 مل من راشح المصل المدعم بالمواد المغذية ثم لقحت في غرفة الزرع , و تم وضعها بالحاضنة الهزازة وإجراء الإختبارت اللازمة لها.

الطريقة (2):باستخدام المخمر الحيوي electrolab لإنتاج البروتين وحيد الخلية مخبرياً بواسطة المخمر الحيوي يتبع الخطوات التالية

1- تحضير السلالة من خمائر *Kluyveromyces. lactis*: تم اختيار مزرعة سلالة نقية من خميرة *Kluyveromyces lactis* أكثرت السلالة على وسط تشابك ضمن أنابيب معقمة وللوصول إلى الزرعة المخبرية المضافة إلى راشح المصل (وسط الإكثار) وفق المراحل التالية :

- الزرع الأولي (تحضير بيئة الأغار المغذي مع اللاكتوز) لتنمية السلالة النقية:

تعتبر هذه البيئة وسط انتقائي تركيبي مناسب لنمو الخميرة حيث يضاف الآغار لبيئة وسط تشابك Czapek,s medium بنسبة (20-15%)، للحصول على قوام صلب وعقمت البيئة فيالأوتوغلاف على درجة حرارة (121C°) لمدة 20 دقيقة كما أنه يتم إضافة سكر اللاكتوز

إلى البيئة بدلاً من السكروز كون الـ *Kluyveromyces lactis* من الخمائر المستقلبة للاكتوز يبين الجدول التالي تركيب البيئة المستخدمة

حضر الوسط بحسب الطريقة التي أشار إليها (Hoking وPitt , 1997)، وقد أجري تعديل على مكونات الوسط من خلال استبدال كامل النشاء الذواب بـ30 غ السكروز ثم أذيبت المكونات في دورق مخروطي وضبط الـ(pH =7)، ووزع الوسط على دوارق مخروطية سعة 250 مل ثم عقمت الدوارق بجهاز الصاد الموصد (الأتوكلاف) على درجة حرارة 121C° لمدة 15 دقيقة وضغط 1 كغ/سم^2 , بعد ذلك تم توزيع البيئة في أنابيب الإختبار بمقدار 5-3ml في كل أنبوب ويتم أمالتها ووضعها في البراد حتى تتصلب .

حفظ وإدامة العزلات: استخدم وسط آغار مستخلص البطاطا Potato Dextrose Agar (PDA) لتجديد العزلات المنتقاة .

مرحلة زراعة خميرة *Kluyveromyces lactis* على الأنابيب المائلة:

أجريت عملية الزرع في غرفة الزرع المعقمة المزودة بالأشعة فوق البنفسجية (Leminar Flow) بواسطة إبرة بلاتينية من السلالة النقية إلى أنابيب البيئة المائلة وحضنت الأنابيب في الحاضنة بدرجة حرارة (28-30)C° ولمدة 20-24 ساعة ثم وضعت في درجة حرارة البراد.

مرحلة الزرعة المعملية:

يتم في هذه المرحلة تنشيط خميرةالـ *Kluyveromyces.lactis* على راشح المصل المعقم والمضاف له المواد المغذية حيث يؤخذ 100ml من راشح المصل ضمن دورق مخروطي، وفي وسط معقم ودرجة حرارة 28-30C° يتم تلقيح السائل من الأنابيب الحاوية على الخميرة ثم يوضع غطاء قطني مناسب على فوهة الدورق التي تم فيها الزرع وتوضع على الهزاز المغناطيسي بسرعة r.p.m150 والمضبوطة درجة حرارته على C°30 وتترك لدة 24 ساعة حتى نهاية الإكثار

والحصول على الكتلة الحيوية والهدف من هذه الخطوة هو إكثار الخميرة على الوسط الجديد (راشح المصل) وكي تتلائم الخميرة معه باعتباره وسط الإكثار الرئيسي في هذه الدراسة.

تحضير البادىء اللازم لعملية الإكثار الرئيسية في المخمر الحيوي:

يعتبر الدورق المخروطي السابق الحاوي على خميرة الـ *Kluyveromyces.lactis* البادئ لعملية التخمير حيث تجرى عملية طرد مركزي لمحتويات ال دورق المخروطي، ونحصل على الكتلة الحيوية الـ Biomass تتم عملية الطرد المركزي بدرجة حرارة (0C°) وبسرعة دوران قدرها (r.p.m3000) دورة/دقيقة، ولمدة (5) دقائق بعدها يتم أخذ مقدار مناسب من الكتلة الحيوية وإضافتها إلى راشح المصل (Permate)المعد لعملية الإكثار.

2- تحضير وسط الإكثار: حضر المصل الناتج عن صناعة الأجبان وسط الإكثار بواسطة الترشيح فوق العالي للتخلص من البروتينات والدسم المعيقان للإكثار والحصول على(راشح المصل) وتم الوصول إلى التركيز المناسب بعملية التبخير كما أضيف لوسط الإكثار المواد المغذية بالنسب التالية كبريتات الأمونيوم (0.2) ml100/gr وفوسفات ثنائية الأمونيوم $(NH4)_2Hpo_4$ بنسبة (0.3) ml100/gr، وكبريتات المغنزيوم (0.2) ml100/gr كعامل نمو وماءات الأمونيوم (NH4OH) (5) ml100/ml ،كمصدر للآزوت وتعديل حموضة الوسط.

3- الإكثار (Proliferate): وهو المرحلة الأساسية وتعرف بالتخمير وتتطلب شروطاً متضافرة لإعطاء الكتلة الحيوية بالمواصفات الجيدة ، وبأكبر مردود اقتصادي وتجري في عملية التخمير نمو الكتلة الحيوية لسلالة الخميرة *Kluyveromyces.lactis* اعتماداً على تحولات بيولوجية وكيميائية تؤدي لتغيير تركيب الوسط ولتحديد الشروط المثالية لنمو الخميرة والحصول على البروتين وحيد

الخلية (SCP) استخدم جهازالحاضنة الهزازة Sheker Incubater بتنمية سلالة الخميرة في دوارق مخروطية سعة 250 مل يملأ فيها 50 مل من وسط الإكثار المعد وتوضع في الجهاز بالشروط المناسبة لتحديد تركيزالوسط والحرارة والأس الهيدروجيني وعدد دورات الحاضنة الهزازة ومن ثم تحدد التهوية المثالية والحصول على الكتلة الحيوية بالإكثار ضمن المخمرالحيوي بالطريقة الدورية .

مانع الرغوة (Aunty Fome): استخدم مضاد رغوة مركب من استيرات حموض دسمة , على شكل مركزات تمدد بالماء وتشكل مستحلب لا يثبط نمو الخميرة ويستهلك من قبلها وليس له أي تأثيرات على تركيب الوسط أوعمليات الإستقلاب.

قياس المواد الصلبة المنحلة (البريكس):

تم أخذ (5ml) من وسط التخمير بواسطة أنابيب معقمة ووضعت في المثقلة بسرعة دوران (3000rpm/m) دورة /دقيقة ولمدة (5) دقائق حيث يتم الحصول على سائل ذي طورين ويتم أخذ نقطة من السائل ووضعها في جهاز البريكس لقياس نسبته.

تعيين النمو:

تم أخذ (50ml) من وسط التخمير بواسطة أنابيب معقمة ووضعت في المثقلة بسرعة دوران (3000rpm/m) ولمدة (5) دقائق حيث يتم الحصول على سائل ذي طورين ويتم أخذ البروتين وتجفيفه على حرارة 60C° ومن ثم وزنه وتعيين النموللكتلة الحيوية بـ غ/ل .

4- المعالجة الحرارية والإستخلاص: عرضت الكتلة الحيوية التي تنقل من الم خمر إلى التسخين السريع باستخدام البخار المضغوط إلى الدرجة 65C° -70C° , حيث يساعد التسخين السريع على قتل الخلايا وذلك بتحطيم الحموض النووية للخميرة بعدها يتم فصل سائل التخمير واستخلاص الكتلة

الحيوية بالمرشحات النابذة, إن تأثير كلاً من عمليتي التسخين والترشيح يخفض محتوى الـRNA في الكتلة الحيوية من 10% في الخلايا الحيوية إلى 0.5 -2% في المنتج البروتيني من الوزن الجاف.

5- العمليات المتممة: بعد المراحل السابقة تتعرض الخلايا إلى عمليات التجفيف في المجفف على درجة حرارة 40 C°, وبعدها تمت عملية الطحن, وبعد ذلك تخضع لعدة اختبارات وصولاً للمنتج النهائي.

3-2-3- الإختبارات المتعلقة بإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP):

1- الإختبارات الكيميائية: وفقاً لـ (2002,AOAC).

تحديد الرطوبة:

تم تقدير الرطوبة للبروتين وحيد الخلية (SCP) بجهاز قياس الأشعة السريع ماركة (Sartrorius MA35) الهندي في الهيئة العامة للتقانة الحيوية (حرفوش,2011).

تحديد محتوى البروتين طريقة كلداهل (Kyeldahl method) وفقاًلـ(2002, AOAC) :

لما كان الهدف من عملية الاستخلاص هو الحصول على البروتين بأعلى مردود ممكن وبنقاوة عالية, فإن لاختبار تحديد المحتوى البروتيني في البروتين وحيد الخلية أهمية كبيرة, وتحدد كمية المواد البروتينية وفق المحتوى الإجمالي للآزوت ومن ثم الانتقال إلى المحتوى البروتيني عبر معامل خاص؛ وأفضل طريقة لتقدير البروتين هي طريقة كلدا هل (Kyeldahl)، والتي تعتمد على الهضم الكامل للعينة المراد معرفة محتواها من البروتين (الباقوني وسعد,1996).

تحديد المحتوى من المواد الدسمة طريقة سوكسلت وفقاًلـ(2002, AOAC):

لما كان الهدف من عملية الاستخلاص هو الحصول على بروتين بنقاوة عالية, فإن أية نسبة للمواد الدسمة في المستخلصات البروتينية غير مرغوبة لما لها من تأثير سلبي على خواص البروتين الفيزيوكيميائية والبيولوجية والوظائفية, بالإضافة إلى انخفاض الزمن التخزيني للبروتين المستخلص نتيجة حدوث تفاعلات وتحولات غير مرغوب بها؛ وأفضل طريقة مخبرية لتحديد المواد الدسمة هي طريقة سوكسليت وقد تم إجراء قياس الدسم في مركز البحوث الزراعية بدومافي عامي 2011 – 2012 الشهر الثاني.

تحديد الرماد وفقاًلـ(2002, AOAC):

يعبر عن كمية المواد المعدنية في المواد الغذائية بمفهوم الرماد, فالرماد هو عبارة عن القسم المتبقي بعد عملية الحرق الكاملة للمواد العضوية التي تدخل في تركيب المنتجات الغذائية, وتلعب هذه المواد المعدنية دوراً مهماً من الناحية البيولوجية والغذائية للمنتج الغذائي , ويلعب هذا المؤشر بالنسبة إلى المستخلصات البروتينية احتمال انتقال قسم من المواد المعدنية الموجودة في الوسط إلى المستخلصات البروتينية الناتجة, يحدد الرماد بطرق مختلفة وتم إجرائه بالطريقة الجافة بالمرمدة.

2- تقدير العناصر الثقيلة (الرصاص, الكادميوم,الزرنيخ,النحاس) (2002, AOAC):

يدل وجود العناصر المعدنية الثقيلة على سمية المنتج, ولتقديرها أهمية كبرى في استخدام المنتج كغذاء بشري , حيث تم تحليل العناصر الثقيلة بجهاز الإمتصاص الذري .

طريقة العمل:

1- يوزن 4 غ من البروتين وحيد الخلية وتجفف وترمد على حرارة 550C° لمدة 2 ساعة

2- ينقل الرماد إلى دورق معياري سعة 100 مل عل درجة حرارة 80C° لمدة 12 ساعة مع إضافة قليل من الماء المقطر و 5 مل من حمض كلور الماء المركز ويجرى تسخين للعينة على حرارة 90C° في حمام مائي وتبرد ويكمل الحجم في الدورق العياري إلى 100مل بالماء المقطر

3- يتم ترشيح العينة باستخدام ورق ترشيح عديم الرماد.

4- يتم قياس العنصر الثقيل بواسطة جهاز الإمتصاص الذري ماركة فاريان بالمعايرة مع سلسلة معيارية بتركيز (1-2-5) ppm ثم تقرأ العينات ويتم حساب النتائج من المعادلة التالية

$$\text{تركيزالعنصر} = \frac{\text{قراءة العينة}}{\text{قراءة الستاندر}} \times \text{تركيزالستاندر} \times \frac{\text{حجم الرشاحة}}{\text{وزن العينة}}$$

وتم بالطريقة السابقة حساب تركيز عناصر الرصاص ,الكادميوم,الزرنيخ,النحاس.

3- اختبارات جودة البروتين وحيد الخلية (SCP):

تتضمن الإختبارات التي أجريت على البروتين وحيد الخلية 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 وحيد الخلية في الأغذية اعتماداً على الحيوانات المخبرية وقد أجريت الإختبارات في مديرية الصحة الحيوانية بدمشق قسم تأثير الأدوية وفقاً لـ (Arora وآخرون, 1991).

4- القيمة الحيوية Biological Value (BV):

هي كمية البروتين مقدرة بالغرام المتشكلة بالجسم من جراء تناول 100غ غذاء بروتيني و تمثل القيمة الحيوية نسبة الآزوت المحتبس في حيوانات التجربة على قيمة الآزوت الممتص من قبل الحيوانات.

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

الممتص = المدخل – المطروح بالبراز

Nf: الآزوت المطروح في البراز

Nu: الآزوت المطروح في البول

Nd: الآزوت المدخل مع الغذاء

5- معامل الهضم Total Digestive(TD):

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

6- فائدة البروتين الصافي Net Protein Utliztion (NPU)):

وهي تعتمد على حيوانات التجربة وتمثل النسبة بين البروتين المتناول والبروتين المطروح على شكل صلب (براز) 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

NPU= BV × TD

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

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

7- نسبة فعالية البروتين Protien Efficiency Ratio (PER) :

وهو من أدلة النمو ويعبرعن 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 التجرب 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:

لمغذاة بالكازئين

8- الإختبارات الميكروبية: (Yousefو Carlstrom, 2003)

تم إجراء الإختبارات الميكروبية التالية على البروتين وحيد الخلية الناتج ,تعداد عام , تعداد الكوليفورم , تعداد الخمائر والفطور وذلك باستخدام الأوساط المناسبة

- الأوساط المستخدمة:

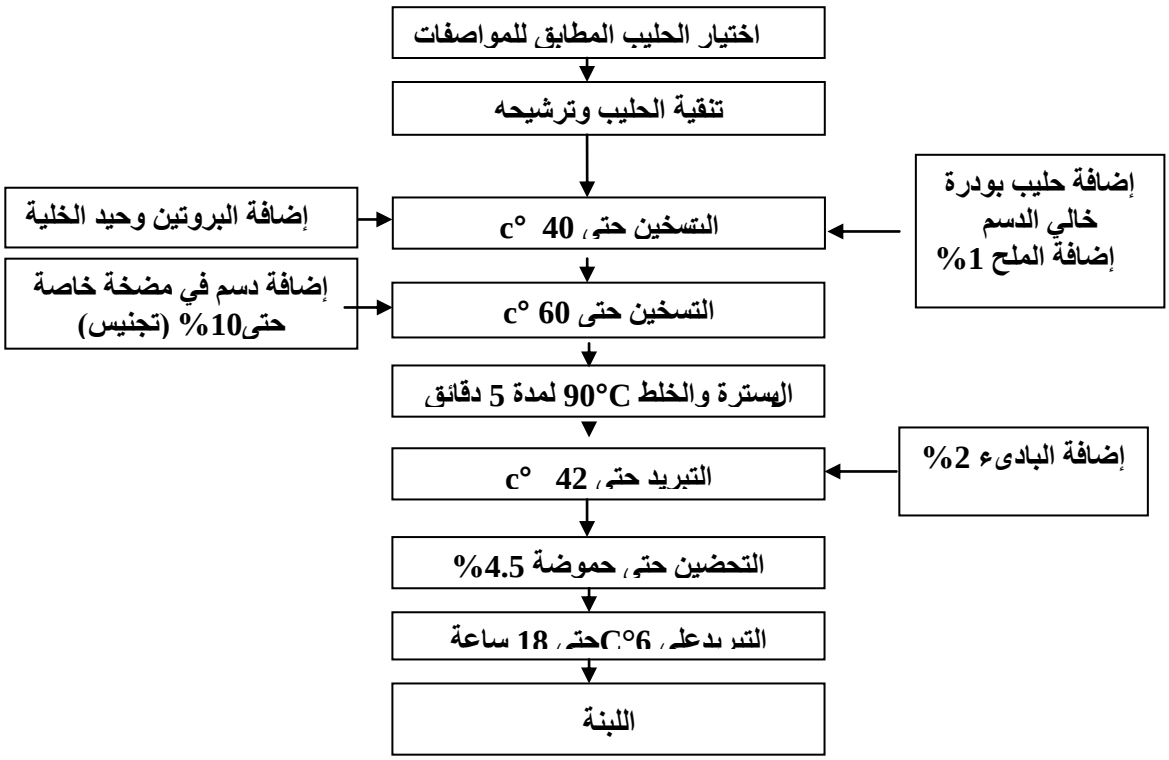
- وسط الآغار المغذي Nutrient Agar :تم استخدامه لإحصاء التعداد العام للجراثيم الهوائية حيث يتم التحضين على درجة 37C° ولمدة 48 ساعة.

- وسط الآغار البنفسجي الأحمر والأصفر Violet Red bile Agar : يستخدم لإنماء بكتيريا الكوليفورم حيث يتم التحضين على درجة 37C° ولمدة 24 ساعة.

- وسط دكستروز البطاطا Potato Dextrose Agar: يستخدم لإنماء الفطور والخمائر على درجة حرارة 25C° ولمدة 3 أيام.

3-3- تصنيع خلطات اللبنة بإضافة البروتين وحيد الخلية SCP بالطريقة المباشرة مخبرياً:

تمت عملية تصنيع اللبنة في مخابرتكنولوجيا الألبان جامعة دمشق/ كلية الزراعة /قسم علوم الأغذية، بالطريقة المباشرة (طريقة ضبط التركيب)، الشكل (12) حيث تم تعديل تركيب الحليب لرفع نسبة الجوامد الكلية حتى 30% بطريقة إضافة مكونات الحليب الصلبة إليه حيث تم تثبيت نسب المكونات وتغيير نسبة البروتين وحيد الخلية (SCP)، كبديل عن الحليب المجفف خالي الدسم حيث تهدف إضافة البروتينات إلى الحليب المخصص لصناعة اللبنة إلى رفع الجوامد الكلية وزيادة المردود التصنيعي من خلال كون البروتينات ذات صفات هامة في عملية التهلم وإعطاء القوام حيث تم تصنيع اللبنة بإضافة البروتين وحيد الخلية SCP بعد اختيار الحليب المطابق للمواصفة 1980/194 الخاصة بالحليب الخام ومن ثم تنقيته وترشيحه وبسترته وإضافة الدسم حتى الدرجة المطلوبة 10%، ومن ثم التبريد وإضافة البادىء المناسب والبروتين وحيد الخلية وفقاً للمخطط التالي:



الشكل-12. تصنيع اللبنة بإضافة البروتين وحيد الخلية SCP:

حيث تم تعديل نسبة الجوامد الكلية والدسم في الحليب عن طريق إضافة مواد الحليب الصلبة بتراكيب مختلفة (حليب بودرة خالي الدسم ، البروتين وحيد الخلية ،السمنة),حيث تضاف هذه الجوامد على درجة حرارة C°40 (ماعدا السمنة التي تضاف على درجة حرارة 60 °C) وتم خلط الجوامد مع الحليب الخام بخلاط عالي السرعة ثم عومل الخليط معاملة حرارية على درجة حرارة 90 °C لمدة 5 دقائق وبعد ذلك برد إلى درجة حرارة C42° ولقّح بالنسبة المحددة من البادئ YC180ومن ثم حضّن على درجة حرارة C45° (حتى pH=4.5) وبعد نهاية التحضين ترك الخليط (15-20 دقيقة) وبعدها وضع في البراد بدرجة حرارة 6 C° لمدة (18 ساعة).

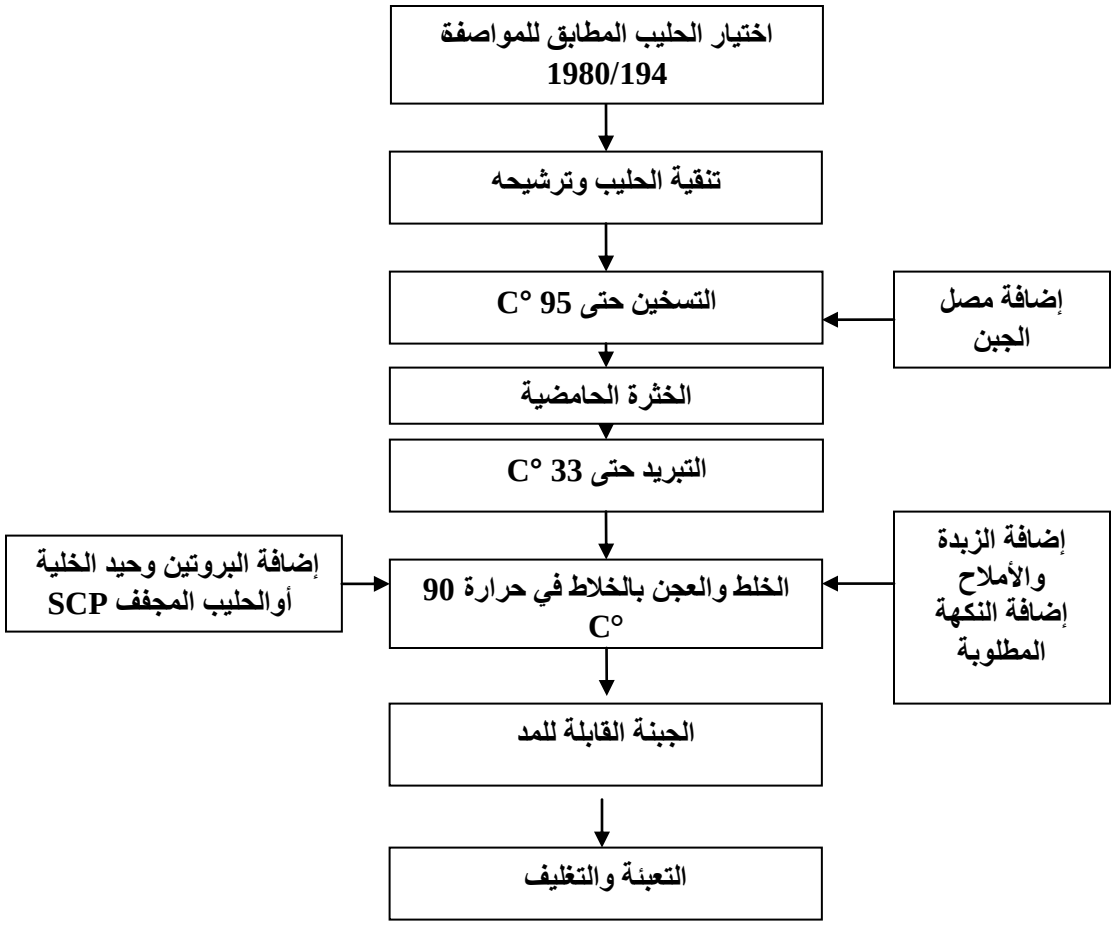
صنعت إحدى عشرة خلطة من اللبنة، و بثلاث مكررات لكل معاملة ,حيث بقيت خلطة الشاهد دون إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP)، وعشرة خلطات أخرى أضيف لها البروتين وحيد الخلية بنسب (1-10) % كبديل عن الحليب البودرة ,حيث تم رفع المادة الصلبة حتى 30% وذلك بإضافة الحليب البودرة منزوع الدسم وإضافة الدسم , حتى 10% بما يتطابق مع المواصفة السورية الخاصة في جميع الخلطات ونسب الخلط موضحة بالجدول (14) وتم إضافة البادىء اللبني YC180(من شركة هانسن),بنسبة2% من وزن الحليب المستخدم وبعدها أجريت الإختبارات الكيميائية والميكروبية والحسية للعينات.

الجدول–14. النسب المئوية لإضافة البروتين وحيد الخلية SCP إلى عينات اللبنة:

المكونات الخلطات	المادة الجافة الكلية %	مادة جافة لا دسمة للحليب %	نسبة الدسم في الحليب %	نسبة الدسم المضافة % (سمنة بقرية)	البروتين وحيد الخلية SCP%	حليب البودرة منزوع الدسم %	نسبة الملح المضافة %
1 الشاهد	30	9	3.54	6.46	0	10	1
2	30	9	3.54	6.46	1	9	1
3	30	9	3.54	6.46	2	8	1
4	30	9	3.54	6.46	3	7	1
5	30	9	3.54	6.46	4	6	1
6	30	9	3.54	6.46	5	5	1
7	30	9	3.54	6.46	6	4	1
8	30	9	3.54	6.46	7	3	1
9	30	9	3.54	6.46	8	2	1
10	30	9	3.54	6.46	9	1	1
11	30	9	3.54	6.46	10	0	1

3-4- تصنيع الأجبان القابلة للمد من الحليب مباشرة باستخدام البروتين وحيد الخليةSCP:

تمت عملية التصنيع في مخابر تكنولوجيا الألبان جامعة دمشق / كلية الزراعة – قسم علوم الأغذية حيث تم في البحث تصنيع الأجبان القابلة للمد ابتداءً من خثرة حامضية وبإضافة البروتين وحيد الخلية SCP بنسبة (1-10) % للوصول إلى النسبة المطلوبة ودراسة التغير في الصفات الكيميائية والميكروبية و الحسية إضافة إلى دراسة التغير الحاصل في المردود مقارنة مع عينة الشاهد وفقاً للمخطط التالي:



الشكل–13. مخطط تصنيع الأجبان القابلة للمد باستخدام البروتين وحيد الخليةSCP:

مراحل تصنيع الجبن القابل للمد مخبرياً:

تحضير الأجبان:

تحضر الأوزان المناسبة من الخثرة الحامضية حسب كل خلطة حيث تعجن جيداً وتصفى من المصل ومن ثم توضع في الخلاط الكهربائي.

تحضير الخلطة:

يضاف إلى الخلاط كمية الحليب المبستر والحليب المجفف و [أو البروتينات وحيدة الخلية (SCP)] وأملاح الصهر بعد إذابتها بالماء ويجب الانتباه إلى عدم التمديد الزائد لعدم ارتفاع المحتوى المائي بعدها يتم تشغيل الخلاط حتى يتم الحصول على خلطة متجانسة وتترك من 20-30 دقيقة ليتم تشكيل المستحلب وتجانس الخلطة ويضبط رقم الpH بين 5.4–5.6.

الطبخ:

توضع الخلطة في وعاء مناسب ويثبت ضمن حمام مائي على الدرجة 55 °C ، حيث تضاف الزبدة في هذه المرحلة , ومن ثم يتم رفع درجة حرارة الحمام المائي إلى الدرجة 100C° مع التحريك المستمر للخلطة باستخدام الخلاط الكهربائي وعند وصول حرارة الخلطة إلى الدرجة 90Cº نحافظ على هذه الدرجة لفترة زمنية قدرها 5 دقائق.

التعبئة:

تعبأ الجبنة الناتجة وهي ساخنة 90Cº في عبوات زجاجية معقمة مسبقاً ويحكم إغلاقها ثم تقلب رأساً على عقب وذلك لتعقيم الأغطية ولعدم تكثف بخارالماء ومن ثم تعقم على الدرجة 80C° لمدة 10 دقائق وتحفظ لحين إجراء التجارب.

التبريد والحفظ:

تترك العبوات لتبرد إلى الدرجة 30C° ثم تحفظ في البراد على الدرجة 4C°.

صنعت إحدى عشرة خلطة من الجبنة القابلة للمد ابتداءً من الخثرة الحامضية للحليب ، مع عدة مكونات أخرى هي الحليب المبستر والحليب المجفف الخالي الدسم والزبدة البقرية وأملاح الصهروالإستحلاب(Kasomol 2366 , Kasomol 2394)، ثنائي فوسفات الصوديوم وبولي فوسفات الصوديوم، إنتاج الشركة البلجيكية Euro- phose وسوربات البوتاسيوم كمادة حافظة وأضيف البروتين وحيد الخلية (SCP)، إلى الحليب المخصص لصناعة الجبنة القابلة للمد بنسب مئوية مدروسة(1-10)%, وعند إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) كانت تحذف نسبة مقابلة من الحليب المجفف خالي الدسم ثم درست الصفات الكيميائية والميكروبية والحسية للعينات الناتجة.

الجدول–15. النسب المئوية لإضافة البروتين وحيد الخلية SCP إلى عينات اللبنة:

العينة / المادة	شاهد 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
الخثرة الحامضية	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40	40
الحليب المجفف منزوع الدسم	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	–
الزبدة	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
الحليب البقري المبستر	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36	36
البروتين وحيد الخلية SCP	–	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
أملاح الصهر (بوليفوسفات صوديوم) بلجيكا	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7
سوربات البوتاسيوم (مادة حافظة)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
NaCl	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

3-5- اختبارات اللبنة و الجبنة القابلة للمد:

التحاليل الكيميائية للبنة والجبنة القابلة للمد:

المادة الصلبة الكلية Total Solid Test: تم تقدير الجوامد الكلية وفق طريقة الـ (AOAC, 2002).

تقدير الرطوبة Moisture determination: حسب طريقة التجفيف حتى ثبات الوزن(AOAC, 2002).

تقدير الدسم Fat Test: بطريقة جربر وفق (سليق وزملاؤه,2009).

تقدير الحموضة المعايرة Acidity Test : وفق طريقة الـ (AOAC, 2002).

تم تحديد الحموضة المعايرة معبراً عنها كحمض لبن وفق

يعبر عنها بعدد الميليترات من محلول ماءات الصوديوم NaOH (0.1N) اللازمة لتعديل 100ml من المادة المراد معرفة حموضتها ويعبر عنها بالقانون

$$\text{النسبة المئوية للحموضة\%} = \frac{\text{عدد مللترات ماءات الصوديوم } \mathbf{0.1N} \times \mathbf{0.009}}{\text{وزن العينة}} \times \mathbf{100}$$

التحاليل الميكروبية Microbial Analysis:(Yousefو Carlstrom, 2003)

تم إجراء الإختبارات الميكروبية التالية على اللبنة و الجبنة القابلة للمد الناتجة تعداد عام , تعداد الكوليفورم تعداد الخمائر والفطور وذلك باستخدام الأوساط المناسبة.

تحضير المحاليل المخففة:

تم تحضير التخفيفات العشرية بتوزيع 9 مل من محلول التخفيف (تريبتون مع الملح) على أنابيب اختبار حيث تم تعقيمها بالأوتوغلاف بالدرجة121 °C لمدة 15 دقيقة.

تمت عملية التخفيف بأخذ 5 غ من عينة الجبن ووضعها في 45 مل من محلول التخفيف، ثم أجريت التخفيفات العشرية بأخذ 1 مل من هذا التخفيف وإضافته إلى الأنبوب المحتوي على 9 مل وأكملت بقية التخفيفات بنفس الطريقة وذلك من أجل التعداد العام والكوليفورم والخمائر والفطور.

3-6- التقييم الحسي Sensory evaluation :

أجري نوعان من ا لاختبارات الحسية لجميع عينات ا للبنة المصنّعة الأول حسب (استمارة 1) والذي يعتمد سلماً من 25 درجة قام به فريق متخصص من قسم علوم الأغذية,مؤلف من (6) أشخاص حيث أعطي للطعم والنكهة (15) درجة, القوام والبنية(5) درجات,واللون والمظهر(5) درجات (2008, Al-shawabkeh).

أماالنوع الثاني فقد اعتمد من قبل المستهلك باستخدام درجات الإعجاب والقبول (Hedonic Scale) والمدرج مابين (9) درجات (يعجبني لدرجة كبيرة جداً) ودرجة واحدة(لا يعجبني لدرجة كبيرة جداً) (استمارة 3) (1982,Larmond).

كذلك أجري نوعان من الاختبارات الحسية لجميع عينات الجبنة القابلة للمد المصنّعة الأول حسب (استمارة 2) والذي يعتمد سلماً من 18 درجة قام به فريق متخصص من قسم علوم الأغذية,مؤلف من (6) أشخاص حيث أعطي للطعم والنكهة (10) درج ات, القوام والبنية(5) درجات,واللون والمظهر(3) درجات وفقاً ل-(Afnor,1993).

أماالنوع الثاني فقد اعتمد من قبل المستهلك باستخدام درجات الإعجاب والقبول (Hedonic Scale) والمدرج مابين (9) درجات (يعجبني لدرجة كبيرة جداً) ودرجة واحدة(لا يعجبني لدرجة كبيرة جداً) (استمارة 3) (1982,Larmond).

وكانت استمارات التقييم الحسي كالتالي:

استمارة رقم (1)

اختبار التذوق لعينات للمنتج (اللبنة)

عزيزي المتذوق أمامك العينات التالية من اللبنة يرجى تقييمها حسياً وإعطاءها الدرجات وفق التالي:

النكهة (الطعم والرائحة) : 15 درجة, القوام والبنية (5): درجات, المظهر : 5 درجات

الجدول–16. التقييم الحسي للعينات المختبرة من اللبنة:

رقم العينة	النكهة (الطعم والرائحة)= 15	القوام والبنية=5	اللون المظهر=5	المجموع من 25
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				

ملاحظات :_____

_____

شكراً لحضوركم

استمارة (2)

استمارة التقييم الحسي من قبل المتخصصين

اختبار التذوق لعينات للمنتج (المطبوخ القابل للمد)

عزيزي المتذوق أمامك العينات التالية من الجبن المطبوخ القابل للمد يرجى تقييمها حسياً وإعطاءها الدرجات وفق التالي:

النكهة (الطعم والرائحة) :(0-10) درجات, القوام والبنية: (0-5) درجات,اللون و المظهر (0-3) درجات

الجدول–17. التقييم الحسي للعينات المختبرة من الجبنة القابلة للمد

رقم العينة	النكهة (الطعم والرائحة)= (0-10)	القوام والبنية =(0-5)	اللون والمظهر=(0-3)	المجموع من 18
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				

ملاحظات :_____

_____

شكراً لحضوركم

استمارة التقييم الحسي من قبل المختصين

استمارة (3)

استبيان تقييم المستهلك

عزيزي المتذوق أمامك العينات التالية من اللبنة ومن الجبن المطبوخ القابلة للمد يرجى تقييمها حسياً ووضع اشارة (×) أمام ما يناسب درجة تقبلك وإعجابك بالمنتج الجديد

الجدول–18. استبيان تقييم المستهلك

درجة الإعجاب والقبول	العينـــــــــــــــــــــــــات										
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**
يعجبني لدرجة كبيرة جداً											
يعجبني لدرجة كبيرة											
يعجبني لدرجة متوسطة											
يعجبني لدرجة قليلة											
يعجبني ولا يعجبني											
لا يعجبني لدرجة قليلة											
لا يعجبني لدرجة متوسطة											
لايعجبني لدرجة كبيرة											
لايعجبني لدرجة كبيرة جداً											

استمارة التقييم الحسي من قبل المستهلك

3-7- التحليل الإحصائي Experimental Design and Statistical Methods:

تم استخدام البرنامج الإحصائي (SPSS Viewer)، وفق تصميم عشوائي بسيط لتحديد الشروط المثالية لإكثار خميرة *Kluyveromyces lactis* على راشح المصل بتغيير قيمة العامل وتثبيت قيمة بقية العوامل بتسعة مكررات لكل عامل وتم مقارنة وجود فرق معنوي بين المتوسطات بالاعتماد على قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D).

أما بالنسبة لتحليل نتائج الإختبارات الكيميائية للمصل وراشح المصل واللبنة والجبنة المطبوخة القابلة للمد والبروتين وحيد الخلية (SCP)، فقد تم إجراء مايلي:

1 -تم إجراء جميع التحاليل بثلاث مكررات وسجلت النتائج كمتوسطات ± الانحراف المعياري.

2 -اجري اختبار التوزع الطبيعي Test for Normality باستخدام اختبار Anderson-Darling Test على مستوى ثقة 5% و تم مقارنة المتوسطات في الإختبارات الميكروبية على مستوى ثقة P <0.01 .

3 -اجري اختبار تحليل التباين (ANOVA) باستخدام طريقة General Linear Model ثم تبعت باختبار Tukey لتحديد الفروق المعنوية بين المتوسطات على مستوى ثقة 5% ($p \leq 0.05$).

4 -تم إجراء جميع التحاليل الإحصائية السابقة باستخدام برنامج

Minitab 14software package (Minitab Inc., USA)

الفصل الرابع

النتائـج والمناقشة

Results and Discussion

4- النتائج والمناقشة RESULTS AND DISCUSSION:

4-1- نتائج تحليل التركيب الكيميائي للمصل الخام:

أجريت التحاليل الكيميائية على خمسة عشرة عينة من المصل الخام للتعرف إلى التركيب الكيميائي للمصل حيث بينت النتائج الجدول (19)عدم وجود فرق معنوي على مستوى معنوية ($p\leq0.05$) في نسبة اللاكتوز و وجود فرق معنوي في نسبة الرطوبة و المادة الصلبة الكلية بين العينات وظهور فرق معنوي في نسبة الحموضة في العينتين (9) و(10)، عن باقي العينات الأمر الذي تم تفسيره بعدم تعرض الحليب المخصص لصناعة الأجبان لعملية البسترة كما تم لحظ وجود فرق معنوي على مستوى معنوية ($p\leq0.05$) , في نسبة البروتين في العينات (4-7-11-14) على التوالي عن باقي العينات ويعزى الأمرإلى اختلاف مصادر الحليب المورد إلا أنه وبشكل عام فقد كانت قيم قرائن المصل ضمن الحدود الطبيعية للمواصفة القياسية السورية –مساحيق مصل الحليب رقم 2537 لعام2002ونتائج Byund,(1995)، ويبين الجدول (19) المتوسط العام محسوباً بالنسبة المئوية للرطوبة(93.17%) والحموضة (0.20) واللاكتوز(5.47%) والمادة الصلبة(6.83%) والبروتين (0.8%) والدسم(0.3%).

الجدول–19. النسب المئوية لمكونات المصل الخام المستخدم في الترشيح:

المصل الخام	الرطوبة %	الحموضة %(حمض لبن)	اللاكتوز %	المادة الصلبة %	البروتين %	الدسم %
1	0.12±93.09^{a}	0.05±0.24^{a}	0.09±5.24^{a}	0.08±6.91^{a}	0.002±0.7^{a,b}	0.003±0.4^{a}
2	0.16±93.13^{a}	0.04±0.22^{a}	0.11±5.33^{a}	0.07±6.87^{a}	0.006±0.9^{a}	0.006±0.3^{a,b}
3	0.11±93.66^{b}	0.18^{a,b}0.08±	0.16±4.52^{a}	0.12±6.34^{b}	0.008±0.8^{a}	0.011±0.3^{a,b}
4	0.14±93.17^{a}	±0.20^{a}0.04	0.12±5.45^{a}	0.09±6.83^{a}	0.015±0.6^{b}	0.013±0.2^{b,c}
5	0.13±93.24^{a}	0.06±0.21^{a}	0.08±5.22^{a}	0.13±6.76^{a}	0.004±0.9^{a}	0.011±0.2^{b,c}
6	0.12±93.15^{a}	0.03±0.22^{a}	0.11±5.58^{a}	0.07±6.85^{a}	0.009±0.8^{a}	0.009±0.4^{a}
7	0.09±93.19^{a}	0.07±0.19^{a,b}	0.07±5.38^{a}	0.06±6.81^{a}	0.012±0.6^{b}	0.008±0.3^{a,b}
8	0.08±93.23^{a}	0.09±0.18^{a,b}	0.13±5.53^{a}	0.09±6.77^{a}	0.014±0.7^{a,b}	0.011±0.2^{b,c}
9	0.11±93.22^{a}	0.06±0.16^{b}	0.06±5.21^{a}	0.11±6.78^{a}	0.009±0.9^{a}	0.007±0.3^{a,b}
10	0.14±93.19^{a}	0.08±0.17^{b}	0.09±5.45^{a}	0.07±6.81^{a}	0.013±0.8^{a}	0.013±0.1^{c}
11	0.09±93.16^{a}	0.03±0.19^{a}	0.12±5.93^{a}	0.06±6.84^{a}	0.016±0.6^{b}	0.015±0.2^{b,c}
12	0.07±93.08^{a}	0.07±0.18^{a}	0.18±5.95^{a}	0.07±6.92^{a}	0.005±0.9^{a}	0.012±0.1^{c}
13	0.11±93.35^{a}	0.05±0.20^{a}	0.16±5.14^{a}	0.09±6.65^{a}	0.011±0.8^{a}	0.011±0.3^{a,b}
14	0.06±93.14^{a}	0.06±0.22^{a}	0.05±5.97^{a}	0.12±6.86^{a}	0.013±0.6^{b}	0.009±0.2^{b,c}
15	0.15±93.12^{a}	0.04±0.21^{a}	0.14±5.53^{a}	0.09±6.88^{a}	0.017±0.7^{a,b}	0.014±0.2^{b,c}
المتوسط العام	93.17	0.20	5.47	6.83	0.8	0.3

تمثل النتائج لكل عينة وسطي تحليل ثلاث مكررات .

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية (p<0.05).

4-2- نتائج تحليل راشح المصل الحاصل بعملية الترشيح فوق العالي UF:

أجريت عملية الترشيح فوق العالي للمصل للتخلص من البروتينات والمواد الدسمة المعيقة لعملية التخمير ولتجنب حدوث تشكل الرغاوي الكبير بسبب وجود بروتينات الألبومين والبيتالاكتوغلوبولين وبعد نزع البروتينات يمكن تركيز اللاكتوز بالتبخير دون أن يكون لذلك أثر سلبي في تركيب راشح المصل أوثبات اللاكتوز وعند التخمير يضاف إلى راشح المصل المواد المغذية اللازمة لإتمام عملية التخمير(Athanasios وآخرون,2009).

بينت النتائج الجدول (20)، للتحليل الكيميائي لراشح المصل كفاءة عملية الترشيح فوق العالي في تخليص المصل من البروتينات المعيقة لعملية نمو خميرة الـ *K.lactis* حيث وجد إنخفاض كبير في النسبة المئوية للبروتين ، وعدم وجود فرق معنوي على مستوى معنوية ($p\geq0.05$) في العينات المدروسة وقد عزي الأمر إلى جودة الغشاء المستخدم في عملية الترشيح كما أنه تم لحظ وجود فرق معنوي على مستوى ثقة ($p\geq0.05$) في عينات اللاكتوز (10-11-14) عن باقي العينات وارتفاع طفيف لتركيز اللاكتوز في الوسط ناجم عن خروج كميات لا بأس فيها من الماء مع بروتينات المصل كما تم لحظ انخفاض في حموضة المصل ناجم عن قتل بكتريا اللاكتيك المسببة لإرتفاع الحموضة، وذلك ناجم عن رفع درجة الحرارة إلى حد كافٍ لقتل بكتريا الحموضة حيث تمت عملية الترشيح فوق العالي على درجة حرارة (50C°) وذلك حسب (Rodriguezوآخرون,1999). كما أنه لم يلاحظ وجود فرق معنوي على مستوى ثقة ($p<0.05$)، بين النسب المئوية للمتوسطات في للعينات في خاصية الرطوبة والمادة الصلبة الكلية والبروتين والدسم وبالتالي لا يمكن تفضيل أي عينة على الأخرى بالنسبة لهذه المتوسطات الأمر الذي تم تفسيره بجودة الغشاء المستخدم وإجراء عملية الترشيح على نفس الجهاز.

يبين الجدول (20).النسب المئوية لمكونات راشح المصل التي تم الحصول عليهاحيث أن المتوسط العام لهذه النسب محسوب كنسبة مئوية للرطوبة(93.32%) والحموضة (0.17) واللاكتوز(5.73%) والمادة الصلبة(6.68%) والبروتين (0.03%) والدسم(0.03%).

الجدول–20. النسبة المئوية لمكونات راشح المصل:

عينات راشح المصل	الحموضة % كحمض لبن	اللاكتوز %	المادة الصلبة %	البروتين %	الدسم %	الرطوبة %
1	0.03±0.17[a]	0.09±5.28[a]	0.07±6.74[a]	0.008±0.01[a]	±0. 02[a] 0.009	0.11±93.26[a]
2	0.09±0.16[a]	0.11±5.39[a]	0.09±6.69[a]	0.005±0.02[a]	0.012±0.03[a]	0.15±93.31[a]
3	0.11±0.15[a]	0.08±4.54[a]	0.14±6.06[b]	0.011±0.02[a]	0.011±0.02[a]	0.09±93.94[b]
4	0.08±0.18[a]	0.07±5.55[a]	0.08±6.62[a]	0.009±0.03[a]	0.014±0.03[a]	0.08±93.38[a]
5	0.07±0.17[a]	0.09±5.42[a]	0.06±6.59[a]	0.007±0.02[a]	0.008±0.02[a]	0.07±93.41[a]
6	0.05±0.18[a]	±5.61[a,b]0.14	0.12±6.58[a]	0.013±0.03[a]	0.013±0.04[a]	0.14±93.42[a]
7	0.06±0.19[a]	0.08±5.52[a]	0.13±6.63[a]	0.006±0.01[a]	0.007±0.02[a]	0.11±93.37[a]
8	0.09±0.18[a]	0.09±5.64[a,b]	0.12±6.57[a]	0.009±0.04[a]	0.009±0.03[a]	0.18±93.43[a]
9	0.09±0.17[a]	0.17±5.97[a,b]	0.08±6.73[a]	0.012±0.03[a]	0.004±0.03[a]	0.12±93.27[a]
10	0.07±0.15[a]	0.13±6.28[b]	0.11±6.66[a]	0.008±0.02[a]	0.013±0.04[a]	0.10±93.34[a]
11	0.05±0.19[a]	0.09±6.31[b]	0.07±6.78[a]	0.006±0.04[a]	0.006±0.05[a]	0.09±93.22[a]
12	0.04±0.17[a]	0.12±5.95[a,b]	0.09±6.75[a]	0.005±0.02[a]	0.005±0.02[a]	0.09±93.25[a]
13	0.07±0.15[a]	0.05±5.45[a]	0.06±6.71[a]	0.004±0.03[a]	0.009±0.04[a]	0.12±93.29[a]
14	0.09±0.18[a]	0.04±6.37[b]	0.04±6.81[a]	0.011±0.04[a]	0.015±0.03[a]	0.07±93.19[a]
15	0.08±0.16[a]	0.14±5.93[a,b]	0.05±6.55[a]	0.016±0.03[a]	0.014±0.02[a]	0.13±93.45[a]
المتوسط العام	0.17	5.73	6.68	0.03	0.03	93.32

تمثل النتائج لكل عينة وسطي تحليل ثلاث مكررات .

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية (p>0.05).

4-3- تحديد الشروط المثالية لإنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) من خميرة *Kluyveromyces lactis:*

تؤثر العديد من العوامل الفيزيائية والكيميائية في إنتاج البروتين وحيد الخلية مثل تركيز الوسط(اللاكتوز) والأس الهدروجيني والحرارة والتهوية وزمن العملية التخمرية وذلك للوصول إلى أعلى إنتاج من البروتين وحيد الخلية حيث تم في البحث إضافة لقاح الخميرة *Kluyveromyces.lactis* إلى وسط من راشح المصل المدعم بالعناصر الغذائية كبريتات الأمونيوم (0.2) gr/100ml وفوسفات ثنائية الأمونيوم $(NH4)2Hpo_4$ بنسبة (0.3) gr/100ml

وكبريتات المغنزيوم (0.2)gr/100ml كعامل نمو وماءات الأمونيوم (NH4OH) 5ml/100ml كمصدر للآزوت وتعديل حموضة الوسط (Hassan وآخرون,2004).

صممت التجربة بطريقة عشوائية بسيطة لتعيين الشروط المثالية التالية ,تركيز الوسط(اللاكتوز)،ال-pH ،الحرارة ،زمن التخمر،عدد الدورات) وذلك بتغيير قيمة العامل وتثبيت قيمة بقية العوامل وفق عدد من المكررات لكل من الكتلة الحيوية والمردود ومن ثم حساب المتوسطات لكل عامل ومقارنتها بإيجاد الفروق المعنوية والإنحرافات المعيارية على مستوى ثقة $p \leq 0.01$.

4-3-1- تركيزالوسط (اللاكتوز) :

يؤثر تركيز الوسط بشكل كبير على إكثار خميرة *Kluyveromyces lactis* والحصول على الكتلة الحيوية وبناءً على ذلك تم إجراء ترشيح للمصل للتخلص من البروتينات المعيقة للتخمر بتشكيلها للرغاوي (بريشة وزملاؤه ، 2002). ومن ثم أجري تبخير لراشح المصل عدة مرات حتى الوصول لتركيز لاكتوز حتى8.5 % ، ثم أجريت أمثلة شروط لتركيز الوسط بين (4.5-8.5)% (100/gr مل) وتم الحصول على النتائج التالية:

أظهرت النتائج الجدول (21), عدم وجود فرق معنوي على مستوى معنوية ($p \leq 0.01$)، في قيمة الكتلة الحيوية بين العينات المختبرة ذات التركيز(6.5,7.5,8.5)%، وكان أفضل مردود عند وجود اللاكتوز بتركيز (6.5%) ذات المتوسط الأكبر والإنحراف المعياري الأصغر إذ أعطت كتلة حيوية بمقدار 2.87 (ml 1000/gr) ومردود بقيمة 44.10% من قيمة اللاكتوز الموجود في الوسط وقدفسرت النتائج بأن التراكيز المنخفضة لا تتناسب مع قدرة الخميرة على النشاط والنمو والتلائم السريع مع وسط النمو وتركيزالسكر فيه وعدم كفاية التركيز لتقوم الخميرة بنشاطها الأمثل,

كما أكدت النتائج عدم فعالية رفع تركيز اللاكتوز في الوسط حيث أكدت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين العينات ذات التركيز (6.5,7.5,8.5)%، ويمكن تفسير الأمر بإنخفاض ذائبية الأكسجين في الوسط مع إرتفاع تركيز السكر مما ينعكس على قدرة الخميرة على الاستقلاب وبالتالي بطء في التفاعلات الإستقلابية وإنتاج البروتين وحيد الخلية وهذا ما يتوافق مع ما قام به Berg وزملاؤه (1990)، بالإضافة إلى أن تركيز الوسط يؤثر على الضغط الأسموزي (الحلولي) والذي يجب أن يبقى أخفض من الضغط داخل خلايا الخميرة وذلك لتسهيل وصول المواد المغذية إلى داخل الخلايامن الوسط الخارجي ، وبالتالي القيام بالعملية الإستقلابية ، وزيادة معدل نمو الخميرة وإنتاجها للبروتين وحيد الخلية وذلك يتوافق مع نتائج (Siso وDoval ,1994)، وبذلك تم اعتمادها كقيمة مثلى لتركيز الوسط في التجارب اللاحقة.

الجدول-21. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة تركيز الوسط:

تركيز الوسط (اللاكتوز) % gr/ 100مل	الكتلة الحيوية غ/1000مل	المردود %
4.5	0.11 ± 1.26^{c}	2.36 ± 28.02^{c}
5.5	0.08 ± 1.99^{b}	1.57 ± 32.68^{b}
6.5	0.05 ± 2.87^{a}	0.79 ± 44.10^{a}
7.5	0.18 ± 2.62^{a}	2.51 ± 34.98^{a}
8.5	0.09 ± 2.73^{a}	2.14 ± 32.20^{a}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لتسعة مكررات

L.S.D للكتلة الحيوية على مستوى ثقة 1% يساوي 0.15

L.S.D للمردود على مستوى ثقة 1% يساوي 2.40

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية

4-3-2- الأس الهدروجيني الـpH:

يسهم تغير الأس الهدروجيني بدور كبير في إكثار الأحياء الدقيقة لدوره الكبير في انحلال الأملاح، وحالة الشوارد في الوسط التخمري حيث يؤثر الأس الهيدوحيني على تشرد المحلول وانحلال الأملاح وبالتالي على استقلاب الخلايا وزيادة الكتلة الحيوية للكائن الحي الدقيق (بريشة وزملاؤه ,2002)استخدمت عدة قيم ابتدائية لتحديد pH الوسط وذلك بإضافة ماءات الأمونيوم لتعديل الوسط واقعة في المجال(4-6)، بغية تحديد القيمة المثلى لإنتاج الكتلة الحيوية والمردود الأمثل لإكثار خمائر *Kluyveromyces.lactis* على راشح المصل مع الأخذ بعين الإعتبار القيمة المثالية لتركيز الوسط (6.5)%، لحساب النتائج لكل من الكتلة الحيوية والمردود.

تشير نتائج التحليل الإحصائي الجدول (22) إلى وجود فرق معنوي على مستوى ($P\leq0.01$) بين قيمة متوسطات إنتاج الكتلة الحيوية حيث وجد تفوق معنوي لقيمة إنتاج الكتلة الحيوية للأس الهيدروجيني (5) الذي أعطى أعلى قيمة للكتلة الحيوية 2.88 (1000/gr ml)، وبمردود بلغ 44.12%، علماً أنه لا يوجد فرق معنوي للأس الهدروجيني (5) مع الأس الهدروجيني (5.5)، أي أن قيمة الأس الهيدروجيني الأمثل يقع ما بين 5- 5.5 وهذه النتائج تتوافق مع ماحصل عليه العالم (Vanوزملاؤه, 2006)، والعالمان (Siso و Doval,1994) وبما أن الأس الهدروجيني (5) صاحب المتوسط الأكبر والانحراف المعياري الأقل فقد اعتمد كرقم مثالي لنمو خميرة *Kluyveromyces lactis* على راشح المصل في التجارب اللاحقة.

الجدول–22. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة الـpH:

pHالأس الهدروجيني الـ	الكتلة الحيوية غ/1000مل	المردود %
4	0.36 ± 2.01^{c}	0.57 ± 30.97^{c}
4.5	0.26 ± 2.41^{b}	4.13 ± 37.09^{b}
5	0.05 ± 2.88^{a}	0.79 ± 44.12^{a}
5.5	0.16 ± 2.70^{a}	2.44 ± 41.64^{a}
6	0.12 ± 1.17^{d}	1.80 ± 18.03^{d}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لتسعة مكررات

L.S.D للكتلة الحيوية على مستوى ثقة 1% يساوي 0.28

L.S.D للمردود على مستوى ثقة 1% يساوي 4.34

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية

4-3-3- درجة الحرارة:

تصنف الخمائر من الأحياء الدقيقة غير المتحملة لدرجات الحرارة العالية حيث أن المدى الحراري °C(35-28)، هو الأفضل لنموها والحرارة من العوامل الهامة لنمو وإكثار الأحياء الدقيقة حيث أن لكل كائن حي دقيق مجال حراري ينمو ويتكاثر فيه وفي حال ارتفاع أو انخفاض درجة الحرارة يعمل الكائن على التكيف مع الظروف الحرارية المحيطة به (Neri وزملاؤه , 2008).

أجريت عملية أمثلة درجة الحرارة لإكثار الـ*Kluyveromyces lactis*، على وسط راشح المصل في المدى الحراري °C(34-26)، حيث تم قياس الكتلة الحيوية والمردود مع الأخذ بعين الإعتبار قيمة تركيز الوسط (6.5%)، وpH الوسط (5) عند حساب النتائج .

أظهرت النتائج الجدول (23) وجود فرق معنوي على مستوى ($P < 0.01$)، في متوسطات إنتاج الكتلة الحيوية والمردود بين العينات وقد بلغت أعلى قيمة للكتلة الحيوية والمردود عند درجة حرارة °30C بأقل إنحراف معياري 3.01(1000/gr ml) للبروتين وحيد الخلية ، و 46.33%

(للمردود) وبذلك تم اعتماد درجة الحرارة °30C درجة الحرارة المثلى لنمو خميرة *Kluyveromyces lactis* على راشح المصل وهذا يتلاءم مع نتائج ما حصل عليه العالمان

(Siso و Doval ,1994) حيث وجدا أن المجال الأمثل لنمو الخميرة يقع في المجال الحراري (°30-28C)،كما أن النتائج التي تم الحصول عليها تتفق مع ما توصل له Goertz وآخرون عام (2009)، حيث وجدوا أن المجال الأمثل لنموها هو المجال الحراري (°30-29C) ولقد اعتمدت الحرارة °30C كقيمة مثالية للحرارة في الإختبارات التالية.

الجدول–23. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة درجة الحرارة:

درجات الحرارة°C	الكتلة الحيويةغ/ 1000مل	المردود %
26	0.15 ± 1.21^{d}	2.35 ± 18.59^{d}
28	0.14 ± 1.89^{c}	2.19 ± 29.21^{c}
30	0.08 ± 3.01^{a}	1.24 ± 46.33^{a}
32	0.12 ± 2.89^{a}	1.88 ± 44.51^{a}
34	0.23 ± 2.41^{b}	3.48 ± 37.02^{b}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لتسعة مكررات

L.S.D للكتلة الحيوية على مستوى ثقة 1% يساوي 0.19

L.S.D للمردود على مستوى ثقة 1% يساوي 2.99

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية

4-3-4- زمن التخمر:

الزمن الأمثل للنمو هو الزمن الذي يعطي أكبرإنتاج من الكتلةالحيوية وبالتالي أفضل مردود لعملية الإكثار والنمو(بريشة وآخرون ، 2002)، وإن زيادة الكتلة الحيوية على شكل مضطرد أمر ممكن وخاصة عند استخدام طريقة الإكثار النصف مستمرة للخميرة وبزمن طويل ولكن ذلك غالباً مايكون صعب التحقيق من الناحية الاقتصادية (Becerra وآخرون ,2001), ولتحديد الزمن الأمثل تم إجراء عدة تجارب في أزمنة متناوبة مقدرة بالساعة بفاصل ستة ساعات بين الأزمنة المدروسة في المجال (12-36) ساعة .

بينت النتائج التي تم الحصول عليها وجود فروق معنوية لمتوسطات قيم الكتلة الحيوية وقيم المردود عند الأزمنة المختلفة وكان أعلى إنتاج للكتلة الحيوية عند الزمن 24 ساعة حيث بلغت الكتلة الحيوية (3.02 ml 1000/gr) بإنحراف معياري 0.07 وبلغ المردود 46.44% حيث اعتبر الزمن 24 ساعة الزمن المثالي لعملية التخمر لخميرة *Kluyveromyces.lactis* ،على وسط من راشح المصل الزمن 24 ساعة الأمثل للنمو وأعطى أكبرإنتاج من الكتلةالحيوية وبالتالي أفضل مردود لعملية الإكثار والنمو فسرالأمرأن الخميرة قامت بنشاطها الأمثل واستهلكت كمية السكر خلال النمو وتأخرالوصول لطور الموت خلال الزمن وفي الزمن الأعلى بدأ الوسط بالتلوث وازدادت المنتجات الإستقلابية وأدت إلى إنخفاض الكتلة الحيوية. وهذا ما يتوافق على حد بعيد مع النتائج التي توصل لها العالمان (Bartkeviciute و Sasnauskas ,2003)، واعتمد الزمن 24 ساعة كزمن مثالي لمايلي من الإختبارات .

الجدول–24. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة زمن التخمر:

زمن التجربة (ساعة)	الكتلة الحيوية غ/1000مل	المردود %
12	0.91 ± 0.15^{d}	13.97 ± 2.37^{d}
18	2.37 ± 0.26^{c}	36.33 ± 4.05^{c}
24	3.02 ± 0.07^{a}	46.44 ± 1.17^{a}
30	2.89 ± 0.10^{a}	44.45 ± 1.59^{a}
36	2.65 ± 0.15^{b}	40.85 ± 2.38^{b}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لتسعة مكررات

L.S.D للكتلة الحيوية على مستوى ثقة 1% يساوي 0.21

L.S.D للمردود على مستوى ثقة 1% يساوي 3.21

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية

4-3-5- عدد الدورات للحاضنةالهزازة:

يتعلق عدد الدورات بمسألة التهوية ، حيث تزداد التهوية بازدياد عدد الدورات للحاضنة الهزازة وحجم الهواء الموجود في الأرلينة حيث أن عامل الاستفادة من الأكسجين المنحل يتعلق بمسار الفقاعة الهوائية، وحجمها ودرجة الحرارة (نقشو,2000).

أوضح Merico وآخرون (2009), أن خمائر *K.lactis* لها قدرة تخميرية جيدة في الشروط الهوائية واللاهوائية حيث توجه الخميرة إلى إنتاج البروتين في شروط التهوية الجيدة بالأكسجين أما في ظروف محدودة من الأكسجين فتبدأ الخميرة بزيادة استقلاب الغلوكوز و إنتاج الإيتانول والغليسرول وفي شروط أكثر تحديداً للأكسجين تنقص قدرة الإستقلاب ويحدث بطء في النمو ، ومن أجل تعيين سرعة دوران الحاضنة الهزازة الأمثل لإنتاج البروتين وحيد الخلية الSCP أجريت التجارب لعدة مستويات من الدوران عند قيم ثابتة لباقي المتغيرات وهذه القيم على التوالي

(r.p.m)(400,350,300,250,200) .

أظهرت النتائج الجدول (25) ازدياد الكتلة الحيوية مع ارتفاع عدد الدورات حيث بلغت الكتلة الحيوية عند 350(r.p.m) دورة في الدقيقةما مقداره 3.08(ml1000/gr)، وكفاءة الإنتاج (المردود) 47.38%، وبالتالي ازدياد المردود بشكل خطي مع ازدياد عدد الدورات حتى 350 دورة/دقيقة الأمر الذي تم تفسيره بارتفاع ذائبية الأكسجين مما ينعكس على زيادة الإستقلاب وبالتالي زيادة الكتلة الحيوية وهذا يتفق مع ما توصل له العالم Gerba وزملاؤه عام (2002)، حيث أشاروا إلى إرتفاع الكتلة الحيوية لـ *Kluyveromyces lactis*، مع ازدياد التهوية في وسط التخمرحيث تزداد التهوية بازدياد سرعة الدوران وتم اعتمادها كقيمة مثلى في التجارب اللاحقة. أما عند إرتفاع عدد الدورات إلى 400 (r.p.m), فقد تم لحظ هبوط في المردود إلى (41.82%) و الكتلة الحيوية إلى (2.73 غ/1000 مل)، وقد فسر الأمر بسرعة وصول الخلايا إلى الطور اللوغاريتمي ,وبالتالي زيادة أعداد الخلاياوتراكمها في الوسط وموتها وعدم قدرة الخميرة الهرمة على الإستفادة من الأكسجين الموجود في الوسط.

الجدول-25 . تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة عدد الدورات:

عدد دورات الهزاز r.p.m/m	الكتلة الحيوية غ/1000مل	المردود %
200	011±2.49^{c}	1.68±38.26^{c}
250	0.17±2.70^{b}	2.67±41.54^{b}
300	0.07±3.01^{a}	1.04±46.32^{a}
350	0.05±3.08^{a}	1.01±47.38^{a}
400	0.19±2.73^{c}	1.68±41.82^{c}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لتسعة مكررات

L.S.D للكتلة الحيوية على مستوى ثقة 1% يساوي 0.18

L.S.D للمردود على مستوى ثقة 1% يساوي 2.96

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية

4-3-6- معدل التهوية الأمثل PO2:

تهدف عملية التهوية إلى تأمين الأكسجين اللازم لعملية نمو الخمائر في سائل التخمر الذي تتواجد به، وعلى الرغم من أن خميرة *Kluyveromyces lactis* لا تعاني من ظاهرة (Carbeat) من حيث أن نقص الأكسجين لا يدفع الخلايا في الخميرة إلى ممارسة النشاط اللاهوائي إلا أن ذلك يؤثرفي سير عملية النموفيها، وعلى مردود المنتج النهائي ونوعيته .

طبقت الشروط المثالية التي تم التوصل لها في الوحدة التخميرية (المخمرالحيوي) electrolab وتم حساب معدل التهوية الأمثل وفق الطريقة الدورية حيث أجريت التجارب عند خمسة مستويات للتهوية (2%,4%,6%,8%,10%).

حيث تتم هذه الطريقة في مجموعة مغلقة دون اتصال مع الوسط الخارجي أي لا تضاف إلى الوسط مواد مغذية جديدة كمصدر للطاقة أوطرح نواتج التمثيل الغذائي يتم سحب العينات من المخمر بواسطة محقن خاص ومعقم ونظيف للمحافظة على شروط التعقيم قدر الإمكان ضمن ظروف المخبر .

استخدم مانع الرغوة (R-cooH)، من استيرات الحموض الدسمة والتي تعمل على خفض قوة التوتر السطحي كما أنها لا تؤثرفي النمو الخمائري والإكثار أو على الإستقلاب وتركيب الوسط ولا تؤثر في المردود , أظهرت النتائج أن القيمة العظمى للكتلة الحيوية بلغت 3.718 (ml1000/gr) وكفاءة الإنتاج (المردود) 57.20% عند معدل تهوية pO2 (8 %)، وتتقارب هذه القيمة بشكل كبير مع ما حصل عليه العالم Mansoure وآخرون (1993), بدراسته لقيمة التهوية للخمائر وذلك

من كون خمائر *Kluyveromyces lactis* تحتاج إلى قيم تهوية جيدة . وكنتيجة نهائية لعملية أمثلة نمو خميرة *Kluyveromyces lactis*, وجد أنها تنمو في التركيزالأمثل لوسط سكر اللاكتوز تركيز (6.5 %)، وأن الـ pH الأمثل لنموها (5) والحرارة المثلى لنموها هي (30C°) وذلك بزمن تخمر أمثل (24 ساعة) وفق عدد دورات بلغ (350 r.p.m/دقيقة) وبمعدل تهوية أمثل (8%) .

الجدول–26. تغير الكتلة الحيوية والمردود بدلالة التهوية:

PO_2%	الكتلة الحيويةgr/1000ml	المردود %
2	0.23 ± 1.933^{c}	1.04 ± 29.74^{d}
4	0.31 ± 2.246^{b}	1.12 ± 34.55^{c}
6	0.09 ± 3.317^{a}	1.14 ± 51.03^{b}
8	0.06 ± 3.718^{a}	1.02 ± 57.20^{a}
10	0.08 ± 2.812^{b}	1.22 ± 43.26^{b}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات

L.S.D للكتلة الحيوية على مستوى ثقة 1% و5% يساوي 0.21

L.S.D للمردود على مستوى ثقة 1% و5% يساوي 3.21

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية

4-4- استخلاص البروتين وحيد الخلية (SCP):

تم تعريض الكتلة الحيوية إلى التسخين السريع باستخدام البخار المضغوط إلى الدرجة 65C° –90C° , للحصول على البروتين وحيد الخلية, 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 الـ RNA في الكتلة الخلوية من 10% في خلايا البروتين وحيد الخلية إلى 0.5 -2% في المنتج البروتيني من

الوزن الجاف(Wardوآخرون,1998)، ثم تم ت عملية تجفيف الكتلة الحيوية تحت التفريغ حيث تتعرض الخلايا لعملية التجفيف .

4-5- نتائج التحليل الكيميائي للبروتين وحيد الخلية (SCP):

هدف التحليل الكيميائي للمنتج إلى تبيان العناصر الأساسية المكونة له ومدى مطابقتها للمواصفات القياسية المعتمدة من قبل الهيئات الصحية المحلية والدولية ,أجريت التحاليل الكيميائية لعينات البروتين وحيد الخلية (SCP)، في قسم علوم التربة كلية الزراعة في جامعة دمشق, والهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية , حيث تم تحديد النسبة المئوية للرطوبة والمادة الجافة والدسم والبروتين والرماد.

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي الجدول (27) وجود فرق معنوي في نسبة الرطوبة بين العينات على مستوى معنوية (P< 0.05)، وتراوحت نسب الرطوبة بين (35.60±0.30)، في العينة (9) وبين (39.27±0.61)، للعينة (15) وهي ضمن النسب المسموحة والمصرح بها من قبل منظمة الأغذية والزراعة FAO التي تبلغ في بروتين الخمائر(20-40)%، وقدتم تفسيرالإختلاف في نسب الرطوبة بين العينات إلى ظروف التجربة و إلى استخدام طريقة التجفيف بالأشعة تحت الحمراء (جهازستاريوس) حيث تختلف دقة الجهاز من عينة إلى عينة أخرى .

كما أشارت نتائج تحليل المادة الجافة إلى وجود فرق معنوي بين المتوسطات على مستوى معنوية (P≤ 0.05)، لعينات البروتين وحيدالخلية وتراوحت نسبتها بين (64.40±0.15)، للعينة (9) وبين (60.73±0.30)، في العينة (15) وهي ضمن النسب المسموحة والمصرح بها من قبل منظمة الأغذية والزراعة FAOالتي تتراوح بين (60-80)% لبروتينات الخمائر،وقدتم تفسيرالإختلاف

في نسب المادة الجافة إلى ظروف التجربة و إلى استخدام طريقة التجفيف بالأشعة تحت الحمراء (جهازستاريوس) حيث تختلف دقة الجهاز من عينة إلى عينة أخرى، وذلك بسبب الإرتباط الوثيق بين نسبة المادة الجافة وبين نسبة الرطوبة .

دلت النتائج الإحصائية لنسبة البروتين في المادة الجافة وجود فرق معنوي بين على مستوى معنوية (P< 0.05)، بين المتوسطات لصالح الزيادة في نسبة البروتين حيث تراوحت نسبة بروتين في المادةالجافة (47.12%) العينة (4),وبين (43.38%) العينة (15)، وجميع العينات ضمن النسب المسموحة والمصرح بها من قبل منظمة الأغذية والزراعة FAO التي تتراوح بين (45-55)% لبروتينات الخمائرمن 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 هوإنتاج البروتين وحيد الخلية .

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 (4.73±0.11) العينة (13) و(3.39) (العينة 3), 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 وحيد الخلية 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 ($P\leq0.05$)، 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–27. التحليل الكيميائي للبروتين وحيد الخلية SCP

العينات	الرطوبة %	المادة الجافة %	البروتين في المادة الجافة %	الدسم %	الرماد %
1	$0.25\pm38.17^{a,b}$	$0.35\pm61.83^{a,b}$	$0.41\pm45.31^{a,b}$	0.06 ± 4.48^{a}	0.08 ± 5.07^{a}
2	0.15 ± 39.23^{a}	0.21 ± 60.77^{a}	$0.05\pm46.28^{a,c}$	$0.03\pm3.95^{a,b}$	0.08 ± 4.85^{a}
3	$0.25\pm37.43^{b,c}$	$0.32\pm62.57^{b,c}$	0.09 ± 44.56^{b}	0.05 ± 3.39^{b}	0.01 ± 4.96^{a}
4	$0.36\pm38.30^{a,b}$	$0.26\pm61.70^{a,b}$	0.14 ± 47.12^{c}	$0.06\pm4.17^{a,b}$	0.06 ± 4.98^{a}
5	$0.15\pm37.07^{b,c}$	$0.30\pm62.93^{b,c}$	$0.04\pm46.21^{a,c}$	$0.02\pm4.20^{a,b}$	0.09 ± 4.85^{a}
6	0.31 ± 36.17^{c}	0.30 ± 63.83^{c}	0.07 ± 43.96^{b}	0.06 ± 3.67^{b}	0.02 ± 4.91^{a}
7	$0.57\pm37.33^{b,c}$	$0.35\pm62.67^{b,c}$	$0.06\pm46.23^{a,c}$	0.05 ± 4.42^{a}	0.03 ± 5.16^{a}
8	0.38 ± 39.03^{a}	0.25 ± 60.97^{a}	0.11 ± 43.74^{b}	$0.06\pm4.22^{a,b}$	0.04 ± 4.83^{a}
9	0.30 ± 35.60^{d}	0.15 ± 64.40^{d}	$0.09\pm45.83^{a,b}$	$0.03\pm4.15^{a,b}$	0.14 ± 4.96^{a}
10	$0.25\pm37.43^{b,c}$	$0.40\pm62.57^{b,c}$	$0.10\pm45.77^{a,b}$	$0.03\pm4.18^{a,b}$	0.07 ± 5.14^{a}
11	0.26 ± 36.60^{c}	0.21 ± 63.40^{c}	0.09 ± 44.93^{b}	$0.11\pm3.98^{a,b}$	0.05 ± 5.18^{a}
12	$0.68\pm37.27^{b,c}$	$0.15\pm62.73^{b,c}$	$0.09\pm45.33^{a,b}$	0.10 ± 4.35^{a}	0.08 ± 5.19^{a}
13	$0.31\pm38.43^{a,b}$	$0.15\pm61.57^{a,b}$	$0.12\pm46.35^{a,c}$	0.11 ± 4.73^{a}	0.11 ± 4.83^{a}
14	$0.21\pm37.37^{b,c}$	$0.31\pm62.63^{b,c}$	0.05 ± 44.26^{b}	0.06 ± 4.37^{a}	0.07 ± 5.04^{a}
15	0.61 ± 39.27^{a}	0.30 ± 60.73^{a}	0.05 ± 43.38^{b}	$0.08\pm4.30^{a,b}$	0.04 ± 5.17^{a}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$)

4-6- نتائج تحليل الاختبارات الميكروبية للبروتين وحيد الخلية (SCP):

أجري على البروتين وحيد الخلية (SCP)، عدة تحاليل م يكروبية لتقدير سلامته وهذه الإختبارات هي التعداد العام للجراثيم غير الممرضة ,جراثيم الكوليفورم , الخمائر والفطور , تشير النتائج للتحليل الإحصائي لهذه الاختبارات الجدول (28) إلى عدم وجود فرق معنوي بين متوسطات العينات على مستوى معنوية ($P \leq 0.01$)، 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 الفاو FAO والتي لا تسمح بوجود أكثر من 10^5 خلية/غ في البروتيات المجففة .

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 وحيد الخلية (SCP)، أثركبير في زيادة نسبة الأحياء الدقيقة وبالتالي زيادة التعداد الكلي للأحياء الدقيقة غير الممرضة كما أن الظروف لم تكن مناسبة لزيادتها بشكل مضطرد.

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 منظمة FAO والذي يجب ألا يتجاوز (10^3) خلية/غ وقد عُزي الأمرإلى نظافة الماء المستخدم في عملية غسل البروتين وحيد الخلية وإلى عدم توفر الظروف الملائمة لنشاط بكتريا الكوليفورم.

أما بالنسبة لتعداد الخمائرفهي أيضاً ضمن الحدودالطبيعية لمواصفات منظمة الفاو FAOالبالغ (5×10^1) خلية/غ ولا يوجد فرق معنوي على مستوى معنوية ($P \leq 0.01$)، بين المتوسطات، وبذلك لا يمكن تفضيل أي عينة على الأخرى، وقد تم تفسيروجود الخمائر في البروتين هو تعرضه للتجفيف المكشوف بعد تعرضه للمعاملة الحرارية لتقليل نسبة الأحماض النووية ثم نقله مكشوفاً من وعاء إلى أخر في ظروف غير عقيمة.

الجدول–28. نتائج التحليل الميكروبي للبروتين وحيد الخلية (SCP):

البروتين وحيد الخليةSCP	التعداد العام خلية/غ مع الحساب الإحصائي لوغاريتمياً		الكوليفورم خلية/غ مع الحساب الإحصائي لوغاريتمياً		الخمائر خلية/غ مع الحساب الإحصائي لوغاريتمياً	
1	$10^3 \times 2.10$	0.02 ± 3.32^a	$10^2 \times 2.6$	0.04 ± 2.41^a	$10^1 \times 2.4$	0.03 ± 1.38^a
2	$10^3 \times 2.15$	0.01 ± 3.33^a	$10^2 \times 1.8$	0.03 ± 2.24^a	$10^1 \times 2.0$	0.03 ± 1.30^a
3	$10^3 \times 2.13$	0.01 ± 3.33^a	$10^2 \times 1.7$	0.03 ± 2.23^a	$10^1 \times 4.0$	0.05 ± 1.60^a
4	$10^3 \times 2.25$	0.01 ± 3.35^a	$10^2 \times 1.6$	0.02 ± 2.21^a	$10^1 \times 3.0$	0.05 ± 1.48^a
5	$10^3 \times 2.14$	0.02 ± 3.32^a	$10^2 \times 2.2$	0.05 ± 2.34^a	$10^1 \times 2.0$	0.03 ± 1.30^a
6	$10^3 \times 2.18$	0.01 ± 3.33^a	$10^2 \times 1.7$	0.03 ± 2.23^a	$10^1 \times 2.0$	0.03 ± 1.30^a
7	$10^3 \times 2.22$	0.01 ± 3.34^a	$10^2 \times 1.9$	0.03 ± 2.28^a	$10^1 \times 3.0$	0.05 ± 1.48^a
8	$10^3 \times 2.17$	0.01 ± 3.33^a	$10^2 \times 1.5$	0.02 ± 2.18^a	$10^1 \times 2.0$	0.03 ± 1.30^a
9	$10^3 \times 2.22$	0.01 ± 3.34^a	$10^2 \times 1.7$	0.03 ± 2.23^a	$10^1 \times 4.0$	0.05 ± 1.60^a
10	$10^3 \times 2.10$	0.02 ± 3.32^a	$10^2 \times 1.8$	0.02 ± 1.90^a	$10^1 \times 2.2$	0.03 ± 1.34^a
11	$10^3 \times 2.24$	0.01 ± 3.34^a	$10^2 \times 2.3$	0.04 ± 2.36^a	$10^1 \times 5.0$	0.07 ± 1.69^a
12	$10^3 \times 2.10$	0.02 ± 3.32^a	$10^2 \times 2.2$	0.02 ± 2.34^a	$10^1 \times 3.0$	0.05 ± 1.48^a
13	$10^3 \times 2.17$	0.01 ± 3.33^a	$10^2 \times 1.6$	0.02 ± 2.21^a	$10^1 \times 2.1$	0.03 ± 1.32^a
14	$10^3 \times 2.10$	0.02 ± 3.32^a	$10^2 \times 1.9$	0.03 ± 2.28^a	$10^1 \times 3.0$	0.05 ± 1.48^a
15	$10^3 \times 2.23$	0.01 ± 3.33^a	$10^2 \times 2.2$	0.05 ± 2.34^a	$10^1 \times 2.4$	0.03 ± 1.38^a

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.01$)

4-7- نتائج تحليل وجودعناصر المعادن الثقيلة في البروتين وحيد الخلية:

المعادن الثقيلة موجودة بصورة طبيعية في البيئة وهي موادغير مصنعة ومن هناتأتي خطورتها وسميتهاإذ يمكن أن تدخل في الدورة البيولوجية لجسم الإنسان.

حللت 15 عينة من البروتين وحيد الخلية (SCP) لبيان وجود العناصر المع دنية الرصاص والكادميوم والزرنيخ، والنحاس بواسطة جهاز الإمتصاص الذري في قسم علوم التربة أشارت نتائج التحليل الإحصائي إلى نسب المعادن الثقيلة في البروتين الوحيدالخلية الجدول (4-11)، و إلى 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 أفضل العينات (2) و(14)، حيث بلغت نسبة الرصاص (0.13) ppm، وهذه النسبة أدنى من الحدود المسموح بها في المواصفات المحلية والعالمية لمثل هذا النوع من المنتجات كما دلت النتائج على ارتفاع النسبة المئوية لعنصر الرصاص السام حيث وجد فرق معنوي بين العينة رقم (1)، والعينة رقم (6)، وباقي العينات إلا أنها ضمن الحد المسموح بها لمنظمة FAO والتي لا تسمح أن يتجاوزعنصرالرصاص (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 (12) و(0.33) ppm للعينة (5) ووجود الفرق المعنوي لصالح العينة (12)، علماًأن جميع العينات ضمن الحد المسموح بها من قبل منظمة الـ FAO والبالغ (1) ppm, وفسر وجود الكادميوم في البروتين وحيد الخلية بانتقاله من المعدات والأدوات المستخدمة , أما نسبة الزرنيخ فقد تراوحت بين (0.04)ppm في العينات (6),(9) وبين (0.01)ppm (1) و(7) و(14) علماًأن جميع العينات ضمن الحدود المسموح بها من قبل منظمة الـ FAO ومنظمة الصحة العالمية WHO والتي سمحت بتواجد (1) ppm في البروتينات الميكروبية المجففة يفسر وجود الزرنيخ بإنتقاله من الجو الملوث والمبيدات .

الجدول–29. المعادن الثقيلة للبروتين وحيد الخلية (SCP):

البروتين وحيد الخلية SCP	Pb الرصاص ppm ملغ/كغ	Cd الكادميوم ppm ملغ/كغ	As الزرنيخ ppm ملغ/كغ	النحاس Cu ملغ/كغ ppm
1	0.15 ± 0.77^{a}	$0.12\pm0.27^{a,c}$	0.01 ± 0.01^{a}	-
2	0.06 ± 0.13^{b}	$0.10\pm0.20^{a,b}$	0.01 ± 0.02^{a}	-
3	$0.40^{c}\pm0.10$	$0.06\pm0.17^{b,d}$	$0.01\pm0.03^{a,b}$	-
4	0.10 ± 0.20^{b}	$0.12\pm0.27^{a,c}$	0.01 ± 0.02^{a}	-
5	0.10 ± 0.60^{a}	0.21 ± 0.33^{c}	0.01 ± 0.01^{a}	-
6	0.12 ± 0.43^{c}	0.10 ± 0.30^{c}	0.01 ± 0.04^{b}	-
7	0.15 ± 0.43^{c}	$0.10\pm0.20^{a,b}$	0.01 ± 0.01^{a}	-
8	0.12 ± 0.37^{c}	0.10 ± 0.30^{c}	$0.01\pm0.03^{a,b}$	-
9	0.10 ± 0.40^{c}	$0.10\pm0.20^{a,b}$	0.01 ± 0.04^{b}	-
10	0.10 ± 0.20^{b}	$0.10\pm0.20^{a,b}$	0.01 ± 0.02^{a}	-
11	0.06 ± 0.33^{c}	0.10 ± 0.30^{c}	$0.01\pm0.03^{a,b}$	-
12	0.06 ± 0.23^{b}	0.00 ± 0.10^{d}	0.01 ± 0.02^{a}	-
13	0.06 ± 0.33^{c}	0.10 ± 0.30^{c}	0.01 ± 0.02^{a}	-
14	0.06 ± 0.13^{b}	$0.10\pm0.20^{a,b}$	0.01 ± 0.01^{a}	-
15	0.10 ± 0.20^{b}	$0.10\pm0.20^{a,b}$	0.01 ± 0.02^{a}	-

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$)

4-8- نتائج تقييم جودة البروتين وحيد الخلية (SCP) :

أجريت تجارب تقييم الجودة في مخابر مديرية الصحة الحيوانية بدمشق /قسم السموم وتأثيرالأدوية / على حيوانات التجربة التي كانت عبارة عن فئران الهامستر حيث تمت تغذية الحيوانات على عينات البروتين وحيد الخلية (SCP) لمدة 28 يوماً ثم جمعت خلالها عينات من البرازوالبول وحساب الآزوت الممتص والمحتبس والم أخوذ مع الغذاء لـ 15عينة من البروتين وحيد الخلية , تشير نتائج التحليل الإحصائي لتقييم جودة البروتين وحيدالخلية (SCP) الجدول (30)

بالنسبة لمعامل الهضم الكلي (TD) إلى وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)، حيث تراوح الفرق بين المتوسطات بين (65.25) للعينة (6) إلى (70.21) في العينة (8)، 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 الحدودالطبيعية المسموح بها من قبل منظمة FAO (جدول 2-8), وبلغ المتوسط العام لقيمة معامل الهضم (TD= 67.47%)، كما أظهرت النتائج بالنسب المئوية للقيمة الحيوية BV وجود فرق معنوي بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$) حيث بلغ أعلى متوسط للعينة (8)، وهو (76.52)، وأقل متوسط للعينة (6) وهو (65.90) تدل النتائج أن البروتين وحيد الخلية من الأغذية عالية القيمة الغذائية وذلك لتشكل ما مقداره 0.76 غ من البروتين في الجسم جراء تناول 100غ من البروتين وحيد الخلية (SCP) ,وحيث أن بروتين البيض يمثل القيمة المرجعية للقيمة الحيوية والتي تقدربـ100 وذلك حسب منظمة الـFAO لذا تشكل العينة (8)، الأفضل في القيمة الحيوية علماًأن جميع العينات ضمن المدى المسموح به في المواصفات القياسية للمنظمة وبلغ المتوسط العام للقيمة الحيوية (BV= 71.01%), أما بالنسبة لفائدة البروتين الصافي NPU فقد أشارت النتائج إلى وجود فرق معنوي بالإرتفاع على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)، بين متوسطات العينات , وتراوحت بين (44.75) للعينة (15) وبين (53.72) في العينة (8)، وهذا يدل على كون البروتين من الأغذية الجيدة ونسبته قريبة جداًمن النسبة الموجودة في القمح (41%) والرز(57%)، وجميع العينات ضمن المدى المسموح به في المواصفات القياسية الخاصة لمنظمة الأغذية والزراعة الـ FAO والمتوسط العام لـ(NPU= 47.92%).

كما دلت نتائج التحليل الإحصائي لنسبة فعالية البروتين PER على وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين نسب متوسطات العينات على مستوى معنوية (P≤0.05)، فتراوحت النسب بين (2.00) للعينة (12)، وبين (2.60) في العينة (2) وجميع العينات ضمن المجال المسموح للمواصفات القياسية لمنظمة الـ FAO,وقريبة من قيم بروتينات فول الصويا ولحم الأبقار وكازيئينات الحليب حسب FAO والمتوسط المتوسط العام لـ(PER=2.18).

نستنتج مما سبق أن البروتين وحيد الخلية (SCP) من البروتينات عالية القيمة الغذائية

الجدول–30. نتائج تقييم جودة البروتين وحيد الخلية (SCP):

SCP	معامل الهضم الكلي %TD	القيمة الحيوية %BV	فائدة البروتين الصافي NPU%	نسبة فعالية البروتين PER
1	$1.25\pm67.55^{a,b}$	0.30 ± 68.05^{a}	0.45 ± 45.96^{a}	0.16 ± 2.12^{a}
2	$1.09\pm67.92^{a,b}$	1.82 ± 72.93^{b}	1.37 ± 49.53^{c}	0.20 ± 2.60^{b}
3	0.58 ± 65.32^{a}	0.74 ± 74.04^{c}	0.46 ± 48.36^{c}	0.08 ± 2.01^{a}
4	0.29 ± 68.99^{b}	$0.69\pm73.59^{b,c}$	0.54 ± 50.77^{c}	$0.21\pm2.33^{a,b}$
5	$0.41\pm67.21^{a,b}$	0.74 ± 72.29^{b}	0.95 ± 48.54^{c}	0.11 ± 2.09^{a}
6	0.46 ± 65.25^{a}	0.49 ± 65.90^{a}	0.85 ± 42.99^{d}	$0.15\pm2.33^{a,b}$
7	1.08 ± 68.15^{b}	0.62 ± 71.45^{b}	0.89 ± 48.69^{c}	0.16 ± 2.12^{a}
8	0.29 ± 70.21^{c}	0.79 ± 76.52^{e}	1.15 ± 53.72^{c}	$0.25\pm2.33^{a,b}$
9	$0.81\pm67.23^{a,b}$	$0.69\pm73.61^{b,c}$	0.98 ± 49.48^{e}	0.08 ± 2.01^{a}
10	$1.62\pm67.05^{a,b}$	0.56 ± 67.33^{a}	0.87 ± 45.14^{a}	0.18 ± 2.12^{a}
11	$0.98\pm67.00^{a,b}$	1.45 ± 66.98^{a}	0.94 ± 44.87^{a}	$0.21\pm2.46^{a,b}$
12	0.79 ± 68.59^{a}	0.92 ± 72.61^{b}	0.60 ± 49.81^{e}	0.09 ± 2.00^{a}
13	$2.01\pm67.63^{a,b}$	0.63 ± 71.30^{b}	1.01 ± 48.22^{c}	0.15 ± 2.23^{a}
14	$1.22\pm67.59^{a,b}$	0.67 ± 71.03^{b}	1.04 ± 48.01^{c}	0.08 ± 2.01^{a}
15	0.69 ± 66.40^{a}	1.48 ± 67.39^{a}	0.58 ± 44.75^{a}	0.14 ± 2.04^{a}
المتوسط العام	%67.47	%71.01	%47.92	2.18

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية (P ≤0.05)

4-9- نتائج الإختبارات الكيميائية لعينات اللبنة:

تعتبر الإختبارات الكيميائية من أهم الإختبارات التي تجرى على اللبنة, وذلك لمعرفة خواصها المختلفة وتركيبها وجودتها, حللت العينات كيميائياً وحسبت النسبة المئوية لكل من الرطوبة والمادة الجافة و الدسم والبروتين والحموضة المعايرة .

تشير نتائج التحليل الإحصائي الجدول (31), في خاصية الرطوبة بأنه لا يوجد فرق معنوي على مستوى معنوية (P≥0.05)، بين المتوسطات للبنة المصنعة بطريقة ضبط التركيب وجميعها ضمن الحدود الطبيعية المسموح بها للمواصفة القياسية السورية , رقم 1984/178 , وبسبب عدم وجود فرق معنوي بين المتوسطات على مستوى معنوية (P ≤0.05)، وبين متوسط النسبة المئوية للعينة الضابطة(الشاهد) رقم (1) (70.69), فلا يمكن تفضيل أي عينة على العينات الأخرى ويعزى ذلك إلى النسب الثابتة التي تمت إضافتها وتصنيع الخلطات على أساسها,إذ تمت إضافة المكونات الرطبة,والسائلة إلى جميع الخلطات بالنسب نفسها وتم التمايز بين الحليب المجفف والبروتين وحيد الخلية (SCP)، كما أن معظم العينات تعرضت لنفس المعاملات التصنيعية والحرارية وهذه النتائج قريبة من نتائج اللبنة التي قام بتصنيعها Al- kadamany وآخرون (2003), حيث حصلوا على لبنة بنسبة رطوبة (74,5%) وقريبة من النسبة التي حصل عليها Yamaniو Abo-Jaber عام (1994)، حيث كانت نسبة الرطوبة في اللبنة المصنعة من قبلهم (76.2%).

في خاصية المادة الجافة لا يوجد فرق معنوي على مستوى معنوية (P≥0.05) ، بين المتوسطات في النسبة المئوية للمادة الجافة للبنة المصنعة بالطريقة المباشرة وبين عينة الشاهد(1) (29.31), وجميعها ضمن الحدود الطبيعية المسموح بها للمواصفة القياسية السورية رقم

1984/178(حد أدنى 25%) , وتم تفسير ذلك في ضوء أن التصنيع تم بطريقة ضبط التركيب, وبنسب إضافة مدروسة إلى جميع الخلطات بالنسب نفسها،وتم التمايز بين الحليب المجفف والبروتين وحيد الخلية (SCP)، كما أن معظم العينات تعرضت لنفس المعاملات التصنيعية والحرارية , ولعدم وجود فرق معنوي بين متوسطات النسب المئوية للعينات المدروسة على مستوى معنوية ($P\leq0.05$) فلا يمكن تفضيل أي عينة على العينات الأخرى ونتائج نسبة المادة الجافة متوافقة مع ما حصل عليه Al- kadamany وآخرون (2003) حيث كانت نسبة الجوامد الكلية في اللبنة المصنعة من قبلهم 25.5%.

كما أظهرت نتائج مقارنة متوسطات النسبة المئوية للدسم عدم وجود فرق معنوي على مستوى معنوية ($P\leq 0.05$) بين متوسطات العينات من(1-5)، وكانت جميعها ضمن الحدود المسموح بها للمواصفة القياسية السورية 178/ 1984 (حد أدنى 10%),أما العينة (11) (11.29)، فقد وجد فيها فرق معنوي عن العينة الضابطة (الشاهد) (9.64), وفي باقي العينات فقد كانت الفروق ظاهرية, وقد عُزي الأمرإلى زيادة نسبة البروتين وحيد الخلية (SCP)، المضافة إلى العينة (11) حيث بلغت (10%)، والحاوي على نسبة دسم أعلى من تلك التي توجد في الحليب المجفف خالي الدسم (1%) وهذه النتائج قريبة من نتائج اللبنة التي قام بتصنيعها Al- kadamany وآخرون (2003) , حيث حصلوا على لبنة بنسبة دسم بلغت 9,83%.

دلت نتائج مقارنة متوسطات النسبة المئوية للبروتين إلى وجود فرق معنوي على مستوى معنوية ($P\leq 0.05$)، بين متوسطات العينات عن عينة الشاهد (1) (8.48%)، وبلغت أعلى نسبة بروتين في العينة (11) (11.93%) حيث بلغت نسبة الإضافة (10%) من البروتين وحيد الخلية

(SCP)، وفُسرالأمر بعدم احتواء عينة الشاهد(1) على أي نسبة من البروتين وحيد الخلية (SCP) وقد تساوى الفرق المعنوي في العينات (3-4-5-6-7-8)، على التوالي كذلك في العينات (9−10−11),وعُزي الأمرإلى زيادة نسبة البروتين الوحيد الخلية المضافة إلى العينات على التوالي ,هذا ولا يمكن هنا تفضيل العينة (11)، ذات المتوسط الأكبربسبب الفرق المعنوي الواضح عن العينة (الشاهد) (1) والنتائج تتفق مع ما حصل عليه YamaniوAbo-Jaber عام (1994) حيث بلغت النسبة المئوية للبروتين في اللبنة المصنعة من قبلهم (7.3%).

كما دلت نتائج مقارنة متوسطات النسبة المئوية لل رماد إلى وجود فرق معنوي على مستوى معنوية (P≤ 0.05)، بين متوسطات العينات عن عينة الشاهد (1) (2.08%) وبلغت أعلى نسبة رماد في العينة (11) (3.09),ويعزى الإرتفاع في نسبة الرمادإلى زيادة نسبة العناصر المعدنية في البروتين وحيد الخلية المضاف وهي نسبة عالية مقارنة مع ما حصل عليه Yamaniو-Abo Jaber عام (1994)، حيث بلغت النسبة المئوية للرماد في اللبنة المصنعة من قبلهم (1.2%).

في الأس الهيدروجيني الـ pH المقابل للحموضة المعايرة لا يوجد فرق معنوي على مستوى معنوية (P≤0.05) ، بين المتوسطات للبنة المصنعة بالطريقة المباشرة وبين عينة الشاهد(1) (4.73), وجميعها ضمن الحدود الطبيعية المسموح بها للمواصفة القياسية السورية رقم 1984/178 حموضة معايرة مابين (1.8- 2.2)% وهي تقابل pH ما بين (4.5- 5.6),وتم تفسير ذلك في ضوءالنسبة الثابتة للبادىء المضاف , والظروف الموحدة التي وضعت فيها العينات من درجة حرارة(مرتفعة ومنخفضة) أدى بها إلى تقدم الحموضة بشكل متقارب.

ولعدم وجود فرق معنوي بين متوسطات النسب المئوية للعينات المدروسة على مستوى معنوية ($0.05\geq P$)، فلا يمكن تفضيل أي عينة على العينات الأخرى وقيمة الأس الهيدروجيني تتفق مع ما توصل إليه Özer و Robinson عام(1999)، حيث كانت نسبة الـ pH في اللبنة المصنعة (4.3).

الجدول–31. التركيب الكيميائي لخلطات اللبنة الناتجة:

العينات	نسبة إضافة البروتين %	الرطوبة %	المادة الجافة %	الدسم %	البروتين %	الرماد %	رقم الـpH
1 شاهد	0	0.08 ± 70.69^{a}	0.07 ± 29.31^{a}	0.02 ± 9.64^{a}	0.04 ± 8.48^{a}	0.10 ± 2.08^{a}	0.02 ± 4.73^{a}
2	1	0.16 ± 69.29^{a}	0.16 ± 30.71^{a}	0.05 ± 9.80^{a}	0.03 ± 9.18^{b}	0.09 ± 2.05^{a}	0.03 ± 5.05^{a}
3	2	0.10 ± 70.36^{a}	0.10 ± 29.64^{a}	0.08 ± 9.55^{a}	0.03 ± 10.25^{c}	$0.10\pm2.20^{a,b}$	0.03 ± 4.52^{a}
4	3	0.09 ± 69.45^{a}	0.09 ± 30.55^{a}	0.05 ± 10.20^{a}	0.04 ± 10.19^{c}	0.07 ± 2.02^{a}	0.03 ± 4.65^{a}
5	4	0.09 ± 70.26^{a}	0.09 ± 29.74^{a}	0.07 ± 9.82^{a}	0.05 ± 10.41^{c}	0.06 ± 2.33^{b}	0.03 ± 4.51^{a}
6	5	0.08 ± 69.76^{a}	0.04 ± 30.21^{a}	$0.05\pm10.40^{a,b}$	0.04 ± 10.42^{c}	0.08 ± 2.06^{a}	0.06 ± 4.71^{a}
7	6	0.07 ± 69.62^{a}	0.07 ± 30.38^{a}	$0.06\pm10.29^{a,b}$	0.04 ± 10.32^{c}	0.10 ± 2.30^{b}	0.07 ± 4.54^{a}
8	7	0.07 ± 70.59^{a}	0.07 ± 29.41^{a}	$0.06\pm10.89^{b,c}$	0.02 ± 10.14^{c}	0.10 ± 2.40^{b}	0.02 ± 4.63^{a}
9	8	0.09 ± 70.96^{a}	0.09 ± 29.04^{a}	$0.03\pm10.35^{a,b}$	0.08 ± 11.25^{d}	0.10 ± 2.70^{c}	0.04 ± 4.55^{a}
10	9	0.03 ± 69.64^{a}	0.06 ± 30.29^{a}	$0.03\pm10.45^{a,b}$	0.05 ± 11.09^{d}	0.12 ± 3.03^{c}	0.02 ± 5.04^{a}
11	10	0.04 ± 70.88^{a}	0.04 ± 29.12^{a}	0.04 ± 11.29^{c}	0.10 ± 11.93^{d}	0.15 ± 3.09^{c}	0.05 ± 4.80^{a}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات
الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية ($P\leq0.05$)

10-4– نتائج التحاليل الميكروبية لعينات اللبنة:

لقد خلت جميع العينات من الكوليفورم والفطور والخمائر ويعزى ذلك إلى شدة المعاملة الحرارية (البسترة) التي تعرضت لها العينات (90C° لمدة 5 دقائق) والتي تعتبر كافية للقضاء على الخلايا الخضرية للأحياء الدقيقة وهذا يتوافق مع Al- kadamany وآخرون (2003),فقد أكدوا

أنه عند المعاملة الحرارية القاسية وظروف التصنيع الجيدة فالمنتج يخلومن الخمائر والفطور بالاضافة إلى إرتفاع للحموضة الناجم عن إضافة البادىء اللبني YC180 والذي ساهم بشكل كبير من خلو المنتج من الأحياء الدقيقة وهذا يتوافق مع Amer وآخرون عام (1997)، كما تتفق مع ما توصل إليه Abou – Donia وآخرون (1992a)، حيث أكدوا أنه بلستخدام بادئ يوغورت لتصنيع اللبنة تغيب بكتريا الكوليفورم في اللبنة الطازجة أو المخزونة.

4-11- التقييم الحسي لعينات اللبنة :

تعتبر الإختبارات الحسية من أهم الإختبارات التي تجرى على اللبنة, وذلك لتقييم خواصها المختلفة ومعرفة جودتها,وتقبل المستهلك لها ,وتؤكدمدى صلاحيته كغذاء بشري, تشيرنتائج التحليل الإحصائي الجدول (32). لخاصية الطعم والنكهة إلى وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)، حققت العينة الشاهد (1)، متوسطاً قدره (10.30), وكان مجموع درجات التقييم (17.8), بينما حققت العينة (5)، متوسطاً قدره (13.70)، بمجموع لدرجات التقييم (23.2)، وتراوحت قيمة متوسط بقية العينات بين هاتين القيمتين ولماكانت العينة (5)، تمتلك المتوسط الأكبرفي درجات التقييم فقد اختيرت كأفضل عينة من حيث الطعم والنكهة حيث نسبة إضافة البروتين وحيد الخلية (4%) وهذا يتوافق إلى حد كبير مع ماتوصل إليه (Tamimeو 1999,Robinson)، حيث تحسنت الخواص الحسية ,بإضافة البروتين بنسبة (0.6-4%) ,وزادت كمية الأست ألدهيد الأمر الذي حسّن الطعم والنكهة لدرجة كبيرة .

كما دلت نتائج التحليل الإحصائي لمتوسطات القوام والبنية وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)، حققت العينة الشاهد (1)، متوسطاً قدره (3.80)

بدون أي إضافة للبروتين وحيد الخلية (SCP)، ونالت العينة (5)، أعلى متوسط بقيمة (4.80) ولما كان هو المتوسط الأكبر فقد اعتمد ت العينة (5)، كأفضل عينة بين العينات من حيث القوام والبنية بنسبة إضافة للبروتين وحيد الخلية (SCP) بلغت (4%)، وهذا يتفق إلى حد كبير مع ما توصل له Gonzalez-Martinez وآخرون عام 2002 حيث بيّنوا أن استخدام بودرة المصل بنسبة 3,6 – 5,2 %، لتدعيم أنواع اللبنة يزيد من قبول المنتجات حيث يبطئ التحميض خلال التخزين ،ويعطي تجانس أكبر ،ويمنع تشكل التكتلات ويعطي قوام هلامي أكثر نعومة.

تشير نتائج التحليل الإحصائي لمتوسطات اللون والمظهر وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)، حققت العينة الشاهد (1) متوسطاً قدره (3.70)، بدون أي إضافة للبروتين وحيد الخلية (SCP) وتساوت متوسط العينة (5) (4.70)، مع متوسط العينة (3) (4.70)، ولكن العينة (5) ذات إنحراف معياري أصغر ولهذا اعتمدت العينة (5) كأفضل عينة بين العينات من حيث اللون والمظهر بنسبة إضافة للبروتين وحيد الخلية (SCP)، بلغت (4%) ولقد عُزي الأمرإلى تجنيس الحليب المخصص لصناعة اللبنة مع الدسم والتجنيس يعمل على تفتيت حبيبات الدسم وزيادة اتحادها مع الحليب وزيادة نصاعة لون الحليب لزيادة نسبة انعكاس الشعاع الضوئي من السطح المعرض للأشعة حيث أن معلق الدهن يعطي مجالاً أكبر لإمتصاص الأشعة الضوئية (طيفور,1988).

أما من حيث المجموع العام لدرجات التقييم الحسي فقد نالت العينة (5) أعلى درجة (23.2) درجة من أصل (25) درجة متفوقة على جميع العينات، و يمكن الإستنتاج بان أفضل نسبة لإضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) إلى عينات الحليب المخصص لصناعة اللبنة هي (4%).

الجدول–32. التقييم الحسي للخلطات (عينات اللبنة):

العينة	نسبة إضافة البروتين %	الطعم و النكهة = 15	5القوام والبنية=	اللون والمظهر=5	مجموع درجات التقييم =25
1	0	1.89±10.30^{a}	0.92±3.80^{a}	1.06±3.70^{a}	17.8
2	1	2.41±10.70^{a}	0.67±3.70^{a}	0.99±3.10^{a}	17.5
3	2	2.18±10.90^{a}	0.95±3.70^{a}	1.25±4.70^{b}	17.7
4	3	2.37±11.50^{b}	0.92±4.20^{b}	0.52±4.40^{b}	20.1
5	4	1.25±13.70^{c}	0.42±4.80^{b}	0.48±4.70^{b}	23.2
6	5	2.06±11.70^{b}	0.79±4.20^{b}	0.67±4.30^{b}	20.2
7	6	2.23±10.90^{a}	0.97±3.60^{a}	0.71±3.50^{a}	18
8	7	0.97±11.60^{b}	0.63±3.80^{a}	0.70±3.60^{a}	19
9	8	2.50±9.40^{d}	1.03±3.20^{a}	0.99±3.90^{a}	16.5
10	9	1.25±9.70^{d}	0.84±2.40^{c}	0.70±2.40^{c}	14.5
11	10	0.99±9.90^{d}	0.71±3.50^{b}	0.97±3.40^{a}	16.8

تشير النتائج في الجدول (33) إستبيان تقييم المستهلك لدرجات الأعجاب والقبول إلى تفوق العينة (5) بنسبة (4%) بروتين وحيدالخلية (SCP) على جميع العينات و نالت أعلى درجات القبول والإعجاب لدى المستهلك (يعجبني لدرجة كبيرة جداً) بمجموع (50) درجة من الدرجات التي منحها المستهلكين,تلتهاالعينة (4) بنسبة (3%) بروتين وتساوت العينتان (3) و(2) في هذه الدرجة, تليها العينة (1) أمافي درجة (يعجبني لدرجة كبيرة) فقد تفوقت العينتان (2) و(3) على بقية العينات (50) درجة وجاء بعدهاالعينة (4) ثم (5) , أمادرجة الإعجاب (يعجبني لدرجة متوسطة) فقد حققت العينة (1) أعلى الدرجات (40) درجة وجاء بعدهاالعينة(2) وتساوت العينات (2) و(3) و(4) و(5) و(6) في هذه الدرجة, في حين لم تحقق العينات (6) و(7) و(8) و(9) و(10) و(11)، أي قبول وإعجاب إيجابي لدى المستهلك ,

حققت العينتان (6) و(7), قبولاًبسيطاً في درجات الإعجاب والقبول (يعجبني لدرجة قليلة),وحظيت العينات (4) و(6) و(7) و(8) , قبولاًمتذبذباً (يعجبني ولايعجبني), فقط العينة (9), حققت عدم قبول تام (لا يعجبني لدرجة كبيرة جداً),وتساوت العينتان (10) و(11), بدرجات عدم الإعجاب (لايعجبني لدرجة قليلة , لايعجبني لدرجة متوسطة , لايعجبني لدرجة كبيرة),وبذللك يمكن الإستنتاج بأن العينة (5) قد حققت أعلى درجات القبول والإعجاب لدى المستهلكين بنسبة بروتين وحيد خلية (SCP) مضافة بلغت (4%).

الجدول–33. استبيان تقييم المستهلك لعينات اللبنة:

العينة	نسبة إضافة البروتين %	درجة الإعجاب والقبول								
		يعجبني لدرجة كبيرة جداً	يعجبني لدرجة كبيرة	يعجبني لدرجة متوسطة	يعجبني لدرجة قليلة	يعجبني ولا يعجبني	لايعجبني لدرجة قليلة	لايعجبني لدرجة متوسطة	لايعجبني لدرجة كبيرة	لايعجبني لدرجة كبيرة جداً
1	0	20	30	40	10	0	0	0	0	0
2	1	30	50	20	0	0	0	0	0	0
3	2	30	50	10	10	0	0	0	0	0
4	3	40	40	10	0	10	0	0	0	0
5	4	50	30	10	10	0	0	0	0	0
6	5	0	0	10	40	20	10	20	0	0
7	6	0	0	0	10	20	20	30	20	0
8	7	0	0	0	0	20	30	30	20	0
9	8	0	0	0	0	0	10	40	40	10
10	9	0	0	0	0	0	40	40	20	0
11	10	0	0	0	0	0	40	40	20	0

4-12- نتائج الإختبارات الكيميائية للمواد الداخلة في صناعة الجبنة المطبوخة القابلة للمد:

تشير نتائج الجدول (34). إلى أن جميع العينات ضمن الحدود المسموح بهاللمواصفة القياسية السورية الخاصة,(للحليب المجفف والزبدة ومساحيق مصل الحليب).

الجدول-34. الإختبارات الكيميائية للمواد الداخلة في صناعة الجبنة المطبوخة القابلة للمد:

نوع المادة	الرطوبة %	المادة الجافة %	الدسم %	البروتين %	اللاكتوز %	الأملاح %
الحليب مجفف	2.8	97.2	1.5	35	54	6.7
الزبدة	16	84	82	-	-	2
الخثرة الحامضية	58.5	41.5	16.2	22.5	2.2	2

تمثل النتائج لكل عينة وسطي تحليل ثلاثة مكررات

4-13- نتائج الإختبارات الكيميائية لعينات الجبنة القابلة للمد المختبرة:

تعتبر التحاليل الكيميائية ضرورية للتعرف على تركيب الغذاء ومدى مطابقته للمواصفات القياسية المعتمدة (اسماعيل وسلامة,2005), حللت العينات كيميائياً وحسبت النسبة المئوية لكل من الرطوبة والمادة الجافة و الدسم والبروتين والحموضة المعايرة والـpH، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليهاأنها ضمن الحدود الطبيعية للمواصفة السورية الخاصة للجبن المطبوخ القابل للمد يوضح الجدول (35) نتائج الإختبارات الكيميائية للعينات .

تشير نتائج الجدول (35) إلى وجود فرق معنوي على مستوى معنوية $P\leq 0.05$ بين المتوسطات لعينات الجبنة القابلة للمد في خاصية الرطوبةحققت العينة الضابطة (1) متوسطاً قدره (57.46%) بينماحققت العينة (11) متوسطاً قدره (61.59%)، وكانت الفروق ظاهرية في بقية العينات (4) و(5) و(7) و(8) و(9), و جميع العينات ضمن الحدود المسموح بهاللمواصفة القياسية السورية الخاصة بالجبن المطبوخ رقم (404) لعام 1986، والتي تسمح بنسب تتراوح ما بين

55-71 % للرطوبة وقد عُزي السبب استخدام نسب ثابتة من المواد في خلطات الجبنة المطبوخة القابلة للمد .

كما أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للمادة الجافة وجود فرق معنوي على مستوى معنوية $P\leq0.05$ بين المتوسطات لعينات الجبنة القابلة للمد حققت العينة الضابطة (1) متوسطاً قدره (42.54%) بينماحققت العينة (11) متوسطاً قدره (38.41%), وكانت الفروق ظاهرية في بقية العينات (4) و(5) و(7) و(8) و(9), وجميع العينات ضمن الحدود المسموح بها للمواصفة القياسية السورية الخاصة بالجبن المطبوخ رقم (404) لعام 1986، والتي تسمح بنسب تتراوح ما بين 29-45 % للمادة الجافة ولما كانت النسبة المئوية للمادة الجافة مرتبطة ارتباطاًوثيقاًبالنسبة المئوية للرطوبة فقدفسر الأمرباستخدام نسب ثابتة للمواد الداخلة في صناعة خلطات الجبن القابلة للمد.

دلت نتائج قياس النسبة المئوية للدسم في المادة الجافة لخلطات الجبنة القابلة للمد وجود فرق معنوي على مستوى معنوية $P\leq0.05$ بين المتوسطات فقد حققت العينة الضابطة (1) متوسطاً قدره (52.64%)، وحققت العينة (11) متوسطاًقدره (55.25%),وقد فسر الأمربارتفاع نسبة البروتين وحيد الخلية المضاف والذي يحتوي على نسبة دسم أعلى من تلك التي يحتويها الحليب المجفف خالي الدسم وجميع العينات ضمن الحدود المسموح بهاللمواصفة القياسية السورية الخاصة بالجبن المطبوخ رقم (404) لعام 1986والتي تسمح بنسبة مادة دسمة تتراوح ما بين (15- 65)%.

أشارت نتائج تحليل نسبة الآزوت الكلي لخلطات الجبنة القابلة للمد وجود فرق معنوي على مستوى معنوية $P\leq0.05$ بين المتوسطات حققت العينة الضابطة (1) متوسطاً قدره (2.24%) وهي

خالية من البروتين ,بينما حققت العينة (11) أعلى متوسط(3.24%) نسبة البروتين فيها (10%) وتم تفسير الأمربزيادة نسبة البروتين وحيد الخلية (SCP) المضافة إلى الخلطات بشكل متتالي (0-10%),كما أن زيادة نسبة الآزوت الكلي يعمل على زيادة التماسك للجبنة القابلة للمد,ولهذا فإن العينات من (1) – (4) تعتبر أفضل من غيرهافي البنية والقوام, ولهذا لا يرغب بزيادة نسبة البروتين وحيد الخلية عن (3%) للحفاظ على القوام المطلوب والمرغوب به.

دلت نتائج قياس النسبة المئوية للحموضة المعايرة إلى عدم وجود فرق معنوي على مستوى معنوية $P\leq 0.05$ بين المتوسطات , حققت العينة الضابطة (1) متوسطاً قدره (1.32)، وهي خالية من البروتين وحيد الخلية(SCP), ولم يلحظ أي فرق معنوي بين معظم العينات حيث حققت العينة (11) أعلى متوسط قدره (1.35)، وتم تفسير الأمربوجود الحموض الأمينية في البروتين وحيد الخلية (SCP) والتي أدت زيادة نسبتهاإلى تغير في قيمة الحموضة القلوية المعايرة.

أشارت نتائج التحليل الإحصائي للأس الهيدروجيني الـ pH إلى عدم وجود فرق معنوي على مستوى معنوية $P\leq 0.05$ بين المتوسطات وبالتالي لا يمكن تفضيل أي عينة عن الأخرى من بين خلطات الجبنة القابلة للمد في خاصية الأس الهيدروجيني(الـpH) .

الجدول–35. نتائج التحليل الكيميائي لخلطات الجبنة القابلة للمد:

العينات	نسبة إضافة البروتين%	الرطوبة %	المادة الجافة %	الدسم في المادة الجافة %	الآزوت الكلي %	الحموضة المعايرة %	الـ pH
1	0	0.36 ± 57.46^{a}	0.36 ± 42.54^{a}	0.03 ± 52.64^{a}	0.02 ± 2.24^{a}	0.04 ± 1.32^{a}	0.01 ± 5.44^{a}
2	1	0.16 ± 56.28^{a}	0.16 ± 43.72^{a}	$0.06\pm53.41^{a,b}$	0.04 ± 2.27^{a}	0.02 ± 1.23^{a}	0.02 ± 5.46^{a}
3	2	0.20 ± 57.54^{a}	0.20 ± 42.46^{a}	0.10 ± 52.79^{a}	0.03 ± 2.34^{a}	0.04 ± 1.22^{a}	0.03 ± 5.48^{a}
4	3	$0.06\pm58.24^{a,b}$	$0.06\pm41.76^{a,b}$	$0.05\pm53.19^{a,b}$	0.05 ± 2.38^{a}	0.02 ± 1.23^{a}	0.02 ± 5.46^{a}
5	4	$0.26\pm58.34^{a,b}$	$0.28\pm41.66^{a,b}$	$0.05\pm53.36^{a,b}$	0.03 ± 2.35^{a}	0.02 ± 1.24^{a}	0.02 ± 5.48^{a}
6	5	0.09 ± 56.26^{a}	0.09 ± 43.74^{a}	0.03 ± 52.40^{a}	$0.06\pm2.79^{a,b}$	0.03 ± 1.27^{a}	0.02 ± 5.50^{a}
7	6	$0.09\pm58.67^{a,b}$	$0.39\pm41.46^{a,b}$	$0.07\pm53.70^{a,b}$	$0.04\pm2.87^{a,b}$	0.03 ± 1.30^{a}	0.03 ± 5.48^{a}
8	7	$0.23\pm59.48^{a,b}$	$0.23\pm40.52^{a,b}$	$0.09\pm53.80^{a,b}$	0.04 ± 3.01^{b}	0.02 ± 1.33^{a}	0.02 ± 5.42^{a}
9	8	$0.01\pm58.42^{a,b}$	$0.15\pm41.49^{a,b}$	0.06 ± 54.29^{b}	0.03 ± 3.15^{b}	0.02 ± 1.31^{a}	0.03 ± 5.41^{a}
10	9	0.27 ± 60.39^{b}	0.27 ± 39.61^{b}	0.09 ± 54.58^{b}	0.54 ± 3.19^{b}	0.05 ± 1.34^{a}	0.02 ± 5.44^{a}
11	10	0.17 ± 61.59^{b}	0.17 ± 38.41^{b}	0.08 ± 55.25^{b}	0.03 ± 3.24^{b}	0.04 ± 1.35^{a}	0.03 ± 5.38^{a}

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$)

14-4- نتائج التحاليل الميكروبية لعينات الجبنة القابلة للمد:

تقدركفاءة العملية التصنيعية بمجموعة من الفحوص الميكروبية, و لتقدير الحمولة الميكروبية يجرى الزرع الجرثومي الدقيق والمباشر الذي يعطي فكرة جيدة عن عدد ونوع الأحياء الدقيقة الحية والميتة .

تشير النتائج التحليل الإحصائي (36) أن التعداد الكلي للأحياء الدقيقة والذي يقيس أعداد البكتريا النشطة في الجبن المطبوخ القابل للمد يتراوح مابين (2.2×10^{1}) خلية/غ في العينة الشاهد رقم (1) وما بين (2.9×10^{1}) خلية/غ ,في العينة (8)، ويمكن تفسير النتائج التي تم الحصول عليها بأن المعاملة الحرارية ذات كفاءة عالية في عملية التصنيع وهي مابين C°85-C°90 لمدة 5 دقائق.

وقد أدت المعاملة الحرارية المطبقة إلى القضاء على الخلايا الخضرية للبكتريا الممرضة وبكتريا الكوليفورم, و الخمائر والفطور ولم تكن كافية لتقضي على الأبواغ البكتيرية وتتفق النتائج إلى حد كبير مع أشار إليه العالم (Caric , 1993)، من أن الحرارة المستعملة في تصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد 80-90 C° كافية لقتل وتحطيم الخلايا الخضرية للبكتريا كما خلت العينات من بكتريا الكوليفورم وهذا يدل على الظروف الجيدة للعملية التصنيعية كما انه لا يمكن إهمال دور المادة الحافظة (سوربات البوتاسيوم) في منع نمو الخمائر والفطور.

وجميع العينات كانت ضمن الحدود المسموح بها في المواصفة القياسية السورية 2179 لعام 2000 من الناحية الجرثومية والتي بلغت لبكتريا الكوليفورم (حد أدنى 1.5×10^{2} وحد أعلى 2×10^{3}) في 1غ وللخمائر والفطور (حد أدنى 1×10 وحد أعلى 5.2×10^{4}).

الجدول–36. نتائج التحليل الميكروبي لخلطات الجبنة القابلة للمد:

رقم العينة	التعداد الكلي للأحياء الدقيقة خلية/غ	التعداد الكلي لبكتريا الكوليفورم خلية/غ	التعداد الكلي للخمائر والفطور خلية/غ
1	$10^{1}\times2.2^{a}$	–	–
2	$10^{1}\times2.8^{c}$	–	–
3	$10^{1}\times2.7^{c}$	–	–
4	$10^{1}\times2.5^{b}$	–	–
5	$10^{1}\times2.2^{a}$	–	–
6	$10^{1}\times2.4^{b}$	–	–
7	$10^{1}\times2.1^{a}$	–	–
8	$10^{1}\times2.9^{d}$	–	–
9	$10^{1}\times2.7^{c}$	–	–
10	$10^{1}\times2.2^{a}$	–	–
11	$10^{1}\times2.8^{c}$	–	–

4-15- نتائج التقييم الحسي لعينات الجبنة القابلة للمد :

تعتبر الإختبارات الحسية من أهم الإختبارات التي جرت على ا لجبنة القابلة للمد , وذلك لتقييم الخواص المختلفة لها ومعرفة جودتها,و مدى تقبل المستهلك لها ، وتؤكد صلاحيته كغذاء بشري, تشيرنتائج التحليل الإحصائي الجدول (37). لخاصية الطعم والنكهة إلى وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)، حققت العينة الشاهد (1) متوسطاً قدره (7.40), وكان مجموع درجات تقييم ها (14.3), بينما حققت العينة (4) متوسطاً قدره (9.20) بمجموع لدرجات التقييم (16.6)، وتراوحت قيمة متوسط بقية العينات بين هاتين القيمتين ولماكانت العينة (4) صاحبة المتوسط الأكبرفقد اختيرت كأفضل عينة من حيث الطعم والنكهة حيث نسبة إضافة البروتين وحيد الخلية (3%) وهذا يتوافق إلى حد كبير مع ماتوصل إليه Thomet وآخرون 2005, حيث أدى إضافة بروتين مصل الحليب إلى الأجبان نصف الصلبة ,بنسبة 2-3.5% إلى تحسن كبيرفي الخواص الحسية وخاصية الذوبان في الفم وتشكل كميات جيدة من الأست ألدهيد أدت لتحسن الفوح والطعم.

كما دلت نتائج التحليل الإحصائي لمتوسطات القوام والبنية وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$) حققت العينة الشاهد (1) متوسطاً قدره (4.00) بدون أي إضافة للبروتين وحيد الخلية (SCP)، ونالت العينة (4) أعلى متوسط بين المتوسطات بقيمة (4.60) ولما كان هو المتوسط الأكبر فقد اعتمد ت العينة (4) كأفضل عينة بين العينات من حيث القوام والبنية بنسبة إضافة للبروتين وحيد الخلية (SCP) ,بلغت (3%)

وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل له Henning وآخرون, (1999), حيث أدت إضافة البروتين في دراستهم إلى إنتاج جبن ذو قوام جيد وقل الاحتفاظ بالدهن في الجبن,كما أنه حسن في القوام وساهم في إعطاء مردود عالٍ.

تشير نتائج التحليل الإحصائي لمتوسطات اللون والمظهر وجود فرق معنوي بالإرتفاع بين المتوسطات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$) حققت العينة الشاهد (1) متوسطاً قدره (2.90) بدون أي إضافة للبروتين وحيد الخلية (SCP)، وحازت العينة(3)أعلى متوسط (3.00). ولهذا اعتمدت العينة (3) كأفضل عينة بين العينات من حيث اللون ، والمظهر علماً أن العينة (4) قد حققت متوسط مقداره (2.80) من دون وجود فرق معنوي مع متوسط العينة (3).

أما من حيث المجموع العام لدرجات التقييم الحسي فقد نالت العينة (4) أعلى درجة (16.6) درجة من أصل (18) درجة متفوقة على جميع العينات و بهذا يمكن الإستنتاج بان أفضل نسبة لإضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) إلى خلطة الجبنة القابلة للمد هي(3%).

الجدول–37. التقييم الحسي للخلطات:

العينة	نسبة إضافة البروتين %	الطعم والنكهة=10	القوام والهنية=5	اللون والمظهر=3	المجموع العام
1	0	1.17 ± 7.40^{a}	0.94 ± 4.00^{a}	0.32 ± 2.90^{a}	14.3
2	1	1.32 ± 7.80^{a}	0.48 ± 3.70^{a}	0.42 ± 2.80^{a}	14.3
3	2	1.05 ± 8.00^{a}	0.47 ± 4.00^{a}	0.00 ± 3.00^{a}	15
4	3	0.79 ± 9.20^{b}	0.52 ± 4.60^{a}	0.42 ± 2.80^{a}	16.6
5	4	2.20 ± 6.80^{c}	1.03 ± 3.80^{a}	0.42 ± 2.80^{a}	13.4
6	5	2.76 ± 3.60^{d}	1.34 ± 1.70^{b}	0.67 ± 2.00^{b}	7.3
7	6	2.67 ± 3.30^{d}	1.05 ± 2.00^{b}	$0.67\pm2.30^{a,b}$	7.6
8	7	2.12 ± 2.60^{d}	1.26 ± 1.60^{b}	$0.63\pm2.20^{a,b}$	6.4
9	8	1.91 ± 2.90^{d}	0.97 ± 1.50^{b}	$0.63\pm2.20^{a,b}$	6.6
10	9	1.95 ± 4.70^{e}	0.88 ± 3.10^{a}	$0.95\pm2.30^{a,b}$	10.1
11	10	2.67 ± 3.30^{d}	0.95 ± 1.70^{b}	$0.70\pm2.40^{a,b}$	7.4

تمثل كل نتيجة المتوسط الحسابي لثلاثة مكررات

الأحرف المتشابهة في العمود الواحد يدل على عدم وجود فروق معنوية ($P \geq 0.05$)

تشير النتائج في الجدول (38) إستبيان تقييم المستهلك لدرجات الأعجاب والقبول إلى تفوق العينة (4) بنسبة (3%) بروتين وحيدالخلية (SCP)، على جميع العينات و نالت أعلى درجات القبول والإعجاب لدى المستهلك (يعجبني لدرجة كبيرة جداً) نالت مجموعاً قدره (60) درجة تلتهاالعينات (3) و(2) و(1) بشكل متساوٍ أمافي درجة (يعجبني لدرجة كبيرة) فقد تفوقت العينتان, (3) (40 درجة) و(1) (30) درجة على بقية العينات , أمادرجة الإعجاب (يعجبني لدرجة متوسطة) فقد حققت العينة (2) أعلى الدرجات (60) درجة وجاء بعدهاالعينة(1) (40) درجة.

حققت العينتان (6) و(7), قبولاًبسيطاً في درجات الإعجاب والقبول (يعجبني لدرجة قليلة),وحظيت العينات (4) و(6) و(7) و(8) , قبولاًمتذبذباً (يعجبني ولايعجبني), فقط العينتان (8) و (11), حققت عدم قبول تام (لا يعجبني لدرجة كبيرة جداً),وتساوت العينتان (9) و(10), بشكل تام

في معظم درجات الإعجاب والقبول أماالعينات (1) و(3) و(5) و(6) و(7)، فقد تساوت بدرجة الإعجاب والقبول (يعجبني لدرجة قليلة), وتبين من خلال الإستبيان تفوق العينة (4) الحاوية على نسبة (3%) بروتين وحيدالخلية (SCP) على بقية العينات في تقبل المستهلك للمنتج وهذا يقود إلى الإستنتاج بان النسبة المثالية لإضافة البروتين وحيد الخلية إلى الخلطات المعدة لتصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد هي (3%).

الجدول–38. استبيان تقييم المستهلك لعينات الجبنة القابلة للمد:

العينة	درجة الإعجاب والقبول								
	يعجبني لدرجة كبيرة جداً	يعجبني لدرجة كبيرة	يعجبني لدرجة متوسطة	يعجبني لدرجة قليلة	يعجبني ولا يعجبني	لايعجبني لدرجة قليلة	لايعجبني لدرجة متوسطة	لايعجبني لدرجة كبيرة	لايعجبني لدرجة كبيرة جداً
1	10	30	40	20	0	0	0	0	0
2	10	10	60	0	0	0	0	0	0
3	10	40	30	20	0	0	0	0	0
4	60	20	20	0	0	0	0	0	0
5	0	0	50	20	30	0	0	0	0
6	0	0	10	20	0	30	30	10	0
7	0	10	0	20	0	10	50	10	0
8	0	0	0	0	20	0	30	40	10
9	0	0	10	10	0	0	60	20	0
10	0	0	10	10	0	0	60	20	0
11	0	0	10	0	10	20	20	20	20

4-16- الجدوى الإقتصادية لإضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) إلى اللبنة والجبنة القابلة للمد:

تم حساب تكاليف المنتجات المصنعة (اللبنة , الجبن القابل للمد),على أساس الخامات الرئيسية التي دخلت في عملية التصنيع مع الأخذ بعين الإعتبارالأسعارالوسطية السائدة للخامات في السوق المحلية و تثبيت قيمة عناصرحساب الجدوى الإقتصادية مع افتراض أنها متطابقة بالنسبة للعينات (وقود ,منظفات , زيوت وشحوم, صيانة , استهلاك معدات, أجور عمال , نقل, اهتلاكات) وقد قدرت التكاليف على أساس إنتاج 100كغ من المنتج.

4-16-1- الجدوى الإقتصادية لتصنيع اللبنة المدعمة بالبروتين وحيد الخلية:

تشير نتائج الجدول (39) لتكاليف إنتاج اللبنة وجود فرق ملحوظ في أسعار اللبنة المدعمة بالبروتين وحيد الخلية (SCP) بنسبة 4% حيث بلغ سعر 1كغ من اللبنة المضاف لها البروتين 174.03 ل.س بينما بلغ سعر 1كغ من اللبنة دون إضافات 200.03 ل.س وبلغت قيمة التفاضل بين السعرين 26 ل.س وهو فرق جيد ويحقق ريعية إقتصادية جيدة بخاصة عند إرتفاع الطاقة الإنتاجية للمصنع الغذائي أو الورشة فعلى فرض منشأة تنتج 5 أطنان من اللبنة يومياً عند ذلك سيكون السعر دون إضافة 1.000.150 ل.س أما إذا أنتجت اللبنة المدعمة فيكون السعر870.150 ل.س أي بفارق 130000 ل.س يومياًولهذا ينصح بإنتاج اللبنة المدعمة بالبروتين وحيد الخلية بنسبة 4%.

الجدول–39. مقارنة تكاليف عينات اللبنة عند إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP):

المكونات / الخلطة	الحليب الخام المضاف لـ100كغ	نسبة الدسم الحيواني المضافة لـ 100كغ	البروتين وحيد الخلية SCP لـ 100كغ	حليب البودرة منزوع الدسم لـ100كغ	نسبة الملح المضافة لـ100
شاهد1	82.54	6.46	0	10	1
سعرواحدة المادة ل.س	100	650	100	750	50
سعر الخامات	8254	4199	0	7500	50
المجموع	20.003 ألف ل.س				
سعر1كغ من اللبنة	200.03				
العينة 5	82.54	6.46	4	6	1
سعرواحدة المادة ل.س	100	650	100	750	50
سعر الخامات	8254	4199	400	4500	50
المجموع	17.403 ألف ل.س				
سعر1كغ من اللبنة مع إضافة 4%	174.03 ل.س				

التكاليف مقدرة على أساس إنتاج 100كغ من المنتج

4-16-2- الجدوى الإقتصادية لتصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد المدعم بالبروتين وحيد الخلية:

تشير نتائج الجدول (40) لتكاليف إنتاج الجبنة القابلة للمد وجود فرق ملحوظ في أسعار الجبنة القابلة للمد المدعمة بالبروتين وحيد الخلية (SCP) بنسبة 3% حيث بلغ سعر 1كغ من الجبنة القابلة للمد المضاف لها البروتين 321.85 ل.س بينما بلغ سعر 1كغ من ها دون إضافات341.35 ل.س وبلغت قيمة التفاضل بين السعرين 19.5 ل.س وهو فرق لابأس به ويحقق ريعية إقتصادية جيدة بخاصة عندإرتفاع الطاقة الإنتاجية للمصنع الغذائي أو الورشة فعلى فرض منشأة تنتج 5 أطنان من الجبنة القابلة للمد يومياً عند ذلك سيكون السعر دون إضافة 1.706.750

ل.س أما في حال إنتاج الجبنة القابلة للمد المدعمة فيكون السعر 1.609.250ل.س أي بفارق 97500 ل.س يومياً ولذلك ينصح بإنتاج الجبنة القابلة للمد المدعمة بالبروتين وحيد الخلية بنسبة 3%.

الجدول–40. مقارنة تكاليف عينات الجبنة القابلة للمد عند إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP)

المادة	سعر المادة للكغ ليرة سورية	العينة 1 الشاهد دون إضافة	سعر خامات العينة 1	العينة (4) الإضافة 3%	سعر خامات العينة 4 الإضافة 3%
الخثرة الحامضية	350	40	14000	40	14000
الحليب المجفف	750	10	7500	7	5250
الزبدة البقرية	650	12	7800	12	7800
الحليب البقري المبستر	100	36	3600	36	3600
البروتين وحيد الخلية SCP	100	–	0	3	300
أملاح الصهر	700	1.7	1190	1.7	1190
سوربات البوتاسيوم	350	0.1	35	0.1	35
NaCl	50	0.2	10	0.2	10
المجموع		34.135 ألف ليرة سورية		32.185 ألف ليرة سورية	
سعر 1كغ من الجبنة القابلة للمد		341.35 ل.س		321.85 ل. س	

التكاليف مقدرة على أساس إنتاج 100كغ من المنتج

الفصل الخامس

الاستنتاجات

Conclusions

5- الاستنتاجات CONCLUSIONS:

مما سبق نستنتج مايلي:

1 - أثبتت الدراسة إمكانية الإستفادة من مصل الأجبان باستخدامها كأوساط نمو للخمائروالحصول على البروتين وحيد الخلية (SCP) لأغراض التغذية البشرية.

2 - إن الشروط المثالية لخميرة الـ (42-K) *Kluyveromyces lactis* من أجل إنتاج البروتين وحيد الخلية (SCP) في المخمر هي التالية تركيز الوسط (6.5) % سكر لاكتوز , والـ(pH = 5) ,حيث تكون حرارة الوسط التخمري (30C°) عند سرعة الدوران مساوية ل .(350) r.p.m دورة / دقيقة ومعدل تهوية مقداره (8)% وكان الزمن الأمثل للنمومساوٍ لـ (24) ساعة.

3 - أكدت الدراسة أن البروتين وحيد الخلية (SCP)الناتج من خميرة *Kluyveromyces lactis* من البروتينات ذات الجودة العالية المرتفعة القيمة الغذائية, وذو نسبة منخفضة من العناصر المعدنية, كما أثبتت الإختبارات الميكروبية أن محتواه من البكتيريا الممرضة والخمائر ضمن الحدود المسموح بتواجدها للبروتينات بحسب منظمة الـ FAO والمواصفة السورية الخاصة .

4 - بينت الدراسة أنه يمكن إنتاج اللبنة من مزج البروتين مع الحليب المخصص لصناعتها وهي ذات صفات كيميائية وميكروبية وحسية جيدة, وضمن الحدود المسموح بها للمواصفة السورية الخاصة وأكدت الدراسة إمكانية إضافة البروتين وحيد الخلية (SCP) للحليب المخصص لصناعتها حتى نسبة 4% بروتين وعدم إمكانية هذه النسبة لتدني المواصفات الحسية للبنة وعدم تقبل المستهلك لها.

5 - أثبتت الدراسة إمكانية تصنيع الجبن القابل للمد بدءاً من خثرة حامضية حيث تضاف لهذه الخثرة الحاوية على (الكازئين أملاح الصهروالحليب المبستر والزبدة والحليب المجفف خالي الدسم)– البروتينات وحيدة الخلية (SCP) بنسب مدروسة والتي أعطت منتجاً مقبولاً كيميائياً وميكروبياًوأثبتت الدراسة إمكانية إضافة البروتين حتى نسبة (3%) وعدم تجاوز هذه النسبة لتدني المواصفات الحسية للجبنة القابلة للمد وعدم تقبل المستهلك لها.

6 - بينت الدراسة أن عملية إضافة 4% بروتين إلى الحليب المخصص لصناعة اللبنة و 3% بروتين إلى خلطة تصنيع الجبن المطبوخ ذا جدوى إقتصادية هامة خاصة في المصانع عالية الإنتاج.

6- المقترحات والتوصيات RECOMMENDATIONS:

1 - تنمية سلالات ج ديدة من الخمائر من جنس الـ *Kluyveromyces*. الحاوية على أنزيم β- غالاكتوسيدازعلى وسط مصل الجبن العكاوي الحلو منزوع البروتينات والدسم للوصول إلى السلالة التي تعطي أكبر إنتاجية بأقل زمن ممكن.

2 - استخدام أنواع أخرى من المصل كأوساط (ركائز) وخاصة مصل الجبن القشقوان وذلك بسبب ارتفاع كميات إنتاجه وضرورة الإستفادة القصوى منه.

3 - ضرورة التدعيم الغذائي لمنتجات الألبان بالبروتينات الغذائية المستخلصة من الكائنات الحية الدقيقة والمنماة على الأوساط النظيفة والمصنعة بالطرق الحديثة لما لهذه البروتينات من فائدة كبيرة على الصحة العامة وزيادة المردود .

4 - توصي الدراسة القائمين على مصانع الألبان بإعتماد الطرق البيوتكنولوجية لمعالجة المصل بتنمية الخمائرعليه والحصول على منتجات جديدة تشكل قيمة مضافة إقتصادياً وتحد من التلوث البيئي المتمثل برمي المصل في المجاري المائية والتأثيرالسلبي على البيئة.

5 - إعتماد طريقة التصنيع المباشر للبنة (ضبط التركيب) ،بإضافة البروتين وحيدالخلية (SCP) ووضع مواصفات خاصة به كمنتج جديد , حيث أنها أقل كلفة وأعلى مردوداً من الطرق التقليدية.

6 - تشكل الدراسة حلاً صناعياًجديداً لمشكلة تخثر الحليب في التعقيم النهائي أوأثناء التسخين الأولي في معامل الألبان وشركات تصنيع الألبان حيث يمكن للخثرة الناتجة أن تضاف إلى

الخلطة الخاصة بتصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد بدءاًمن خثرة حامضية وفق النسب المذكورة في الدراسة.

الملحق

Appendix

7- الملحق Appendix:

الجدول-41. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 2%

العينة	الزمن/ساعة	X gr/l	$x-x_0$ gr/l	pH	عددالدورات rpm/m	°cالحرارة	Bx%البريكس
1	0	0.09	0	5	350	30	7.5
2	1	0.092	0.002	5	350	30	
3	2	0.095	0.005	4.95	348	29.9	6.45
4	3	0.098	0.008	4.98	349	30	
5	4	0.101	0.011	5	350	29.9	6.15
6	5	0.119	0.029	5	350	30	
7	6	0.132	0.042	4.95	350	30	6.02
8	7	0.153	0.063	4.99	350	30	
9	8	0.183	0.093	5.01	347	29.8	5.99
10	9	0.235	0.145	5.01	349	30	
11	10	0.271	0.181	5	350	29.9	5.36
12	11	0.416	0.326	4.98	350	30	
13	12	0.651	0.561	4.99	349	29.7	4.93
14	13	0.937	0.847	5	348	30	
15	14	1.022	0.932	5	345	29.9	4.47
16	15	1.091	1.001	5.01	348	30	
17	16	1.098	1.008	5	349	29.8	3.91
18	17	1.104	1.014	4.97	349	30	
19	18	1.135	1.045	4.99	350	29.8	3.72
20	19	1.194	1.104	4.99	348	30	
21	20	1.221	1.131	5.02	349	29.8	2.97
22	21	1.404	1.314	5.01	350	29.9	
23	22	1.712	1.622	5	350	30	2.02
24	23	1.821	1.731	5	350	30	
25	24	1.933	1.843	5.02	349	29.7	1.92
26	25	1.714	1.624	5	348	30	
27	26	1.578	1.488	4.99	345	30	1.43
28	27	1.105	1.015	4.96	348	29.5	
29	28	1.041	0.951	4.97	349	30	1.21
30	29	0.722	0.632	4.98	348	29.5	
31	30	0.411	0.321	4.99	347	28.6	1.05

الجدول–42. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 4%

العينة	الزمن/ساعة	X gr/l	$x-x_0$ gr/l	pH	عددالدورات rpm/m	°cالحرارة	Bx%البريكس
1	0	0.5	0	5	350	30	7.6
2	1	0.504	0.004	5	350	30	
3	2	0.507	0.007	4.98	348	30.1	6.35
4	3	0.511	0.011	5	349	30.1	
5	4	0.531	0.031	4.99	347	29.9	6.13
6	5	0.568	0.068	5.01	349	30	
7	6	0.592	0.092	5.01	350	30	6.01
8	7	0.641	0.141	4.97	350	29.8	
9	8	0.682	0.182	4.99	349	29.9	5.99
10	9	0.743	0.243	5	350	30	
11	10	0.784	0.284	5	346	30.1	4.98
12	11	0.817	0.317	4.98	349	30	
13	12	0.995	0.495	4.99	350	29.9	4.69
14	13	1.243	0.743	5	350	29.9	
15	14	1.336	0.836	4.98	350	30	4.05
16	15	1.507	1.007	5	349	30.1	
17	16	1.512	1.012	5.02	349	30	3.97
18	17	1.553	1.053	5	348	29.8	
19	18	1.622	1.122	5.01	350	29.9	2.92
20	19	1.679	1.179	5	350	30	
21	20	1.733	1.233	4.99	347	30	2.26
22	21	1.997	1.497	4.98	350	30.1	
23	22	2.078	1.578	5	350	30	1.98
24	23	2.169	1.669	5	350	29.9	
25	24	2.246	1.746	5.01	349	30	1.21
26	25	1.825	1.325	5	350	30.1	
27	26	1.545	1.045	4.98	347	29.8	0.95
28	27	1.414	0.914	4.99	349	30	
29	28	1.256	0.756	4.87	348	29.9	0.73
30	29	1.134	0.634	4.91	347	29.7	
31	30	0.931	0.431	4.86	345	29.4	0.53

الجدول–43. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 6%

العينة	الزمن/ساعة	X grl	$x-x_0$ gr\l	pH	عددالدورات rpm/m	°cالحرارة	Bx%البريكس
1	0	0.7	0	5	350	30	7.21
2	1	0.705	0.005	5	350	30	
3	2	0.711	0.011	4.95	350	29.9	6.18
4	3	0.729	0.029	5	350	30	
5	4	0.738	0.038	4.99	350	29.8	5.99
6	5	0.787	0.087	5	350	29.9	
7	6	0.795	0.095	4.98	350	30	5.74
8	7	0.941	0.241	5	350	30.1	
9	8	1.112	0.412	5.01	350	30	5.29
10	9	1.562	0.862	5	350	30.1	
11	10	1.701	1.001	5.02	350	30	4.98
12	11	2.024	1.324	5	350	30	
13	12	2.097	1.397	4.99	350	30	4.53
14	13	2.224	1.524	5	350	30	
15	14	2.314	1.614	5	350	29.8	4.31
16	15	2.443	1.743	4.97	350	29.9	
17	16	2.514	1.814	5	350	30	3.97
18	17	2.615	1.915	5	350	30	
19	18	2.715	2.015	5.01	350	30.01	3.52
20	19	2.824	2.124	5	350	30	
21	20	3.031	2.331	5.01	350	30	3.14
22	21	2.054	2.354	5.01	350	29.9	
23	22	3.093	2.393	5	350	30	2.93
24	23	3.116	2.416	5	350	30	
25	24	3.317	2.617	4.99	350	29.9	2.42
26	25	3.113	2.413	5	350	30	
27	26	2.721	2.021	4.98	350	30.1	1.97
28	27	2.545	1.845	4.99	350	29.9	
29	28	2.232	1.532	4.99	350	29.9	1.08
30	29	1.954	1.254	4.95	350	29.8	
31	30	1.668	0.968	4.97	350	29.6	0.93

الجدول–44. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 8%

العينة	الزمن/ساعة	X gr/l	$x-x_0$ gr/l	pH	عددالدورات rpm/m	الحرارةc°	البريكسBx%
1	0	1	0	5	350	30	8.1
2	1	1.005	0.005	5	348	30	
3	2	1.012	0.012	4.98	350	29.9	6.05
4	3	1.025	0.025	4.95	350	29.9	
5	4	1.042	0.042	4.99	349	30	5.73
6	5	1.087	0.087	5	349	30	
7	6	1.095	0.095	5	350	29.8	5.33
8	7	1.241	0.241	4.98	350	29.9	
9	8	1.412	0.412	4.95	350	30	4.99
10	9	1.862	0.862	5.01	350	30	
11	10	2.001	1.001	5.02	349	29.9	4.68
12	11	2.324	1.324	5	348	29.9	
13	12	2.397	1.397	5.01	349	30	4.09
14	13	2.524	1.524	4.94	350	30	
15	14	2.614	1.614	4.99	350	29.9	3.65
16	15	2.743	1.743	5	348	29.9	
17	16	2.814	1.814	5.01	349	30	3.07
18	17	2.915	1.915	5	350	30	
19	18	3.015	2.015	4.99	350	29.8	2.52
20	19	3.124	2.124	4.98	350	29.9	
21	20	3.131	2.131	5	349	30	1.77
22	21	3.214	2.214	4.99	350	29.8	
23	22	3.120	2.120	5	349	30	0.45
24	23	3.531	2.531	5	350	30	
25	24	3.718	2.718	4.98	350	29.9	0.32
26	25	2.933	1.933	4.99	348	30	
27	26	2.756	1.756	5	349	30	0.16
28	27	2.589	1.589	4.97	349	29.8	
29	28	1.986	0.986	4.99	349	29.8	0.09
30	29	1.745	0.745	4.98	348	29.7	
31	30	1.428	0.428	4.96	348	29.8	0.004

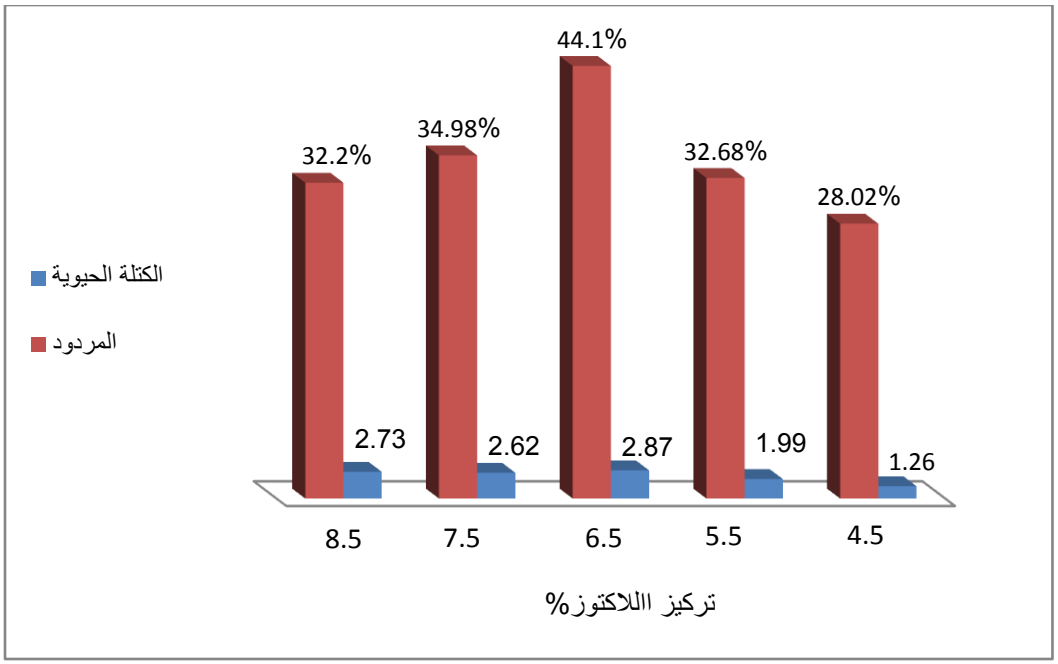
الجدول–45. نتائج الطريقة الدورية لإكثار *Kluyveromyces lactis* عند PO2 10%

العينة	الزمن/ساعة	X gr/l	$x-x_0$ gr/l	pH	عددالدورات rpm/m	°cالحرارة	Bx%البريكس
1	0	0.8	0	5	350	30	7.6
2	1	0.806	0.006	4.95	349	30	
3	2	0.009	0.009	5	350	30.1	6.35
4	3	0.813	0.013	4.88	348	30.1	
5	4	0.832	0.032	5	349	30	5.94
6	5	0.867	0.067	4.93	350	30	
7	6	0.888	0.088	4.92	350	30	5.71
8	7	0.936	0.136	4.98	349	29.9	
9	8	1.122	0.322	5	349	29.9	5.39
10	9	1.552	0.752	4.85	350	30	
11	10	1.711	0.911	4.96	350	30	4.98
12	11	1.984	1.184	5	348	30.1	
13	12	2.147	1.347	5	350	30.3	4.76
14	13	2.229	1.429	4.92	350	30	
15	14	2.294	1.494	4.84	347	30	4.65
16	15	2.343	1.543	4.95	349	29.8	
17	16	2.424	1.624	4.98	350	29.9	4.07
18	17	2.495	1.695	5	350	29.9	
19	18	2.515	1.715	4.96	348	30	3.92
20	19	2.584	1.784	4.95	349	30	
21	20	2.631	1.831	5	350	29.8	3.77
22	21	2.674	1.874	5	350	29.9	
23	22	2.712	1.912	4.98	350	30	3.02
24	23	2.786	1.986	4.95	347	30	
25	24	2.812	2.012	5	349	29.7	2.42
26	25	2.811	2.011	4.85	350	29.9	
27	26	2.775	1.975	5	349	29.9	1.93
28	27	2.365	1.565	4.95	350	29.8	
29	28	1.813	1.013	4.95	349	29.9	1.12
30	29	1.624	0.824	4.92	350	29.8	
31	30	1.452	0.652	4.85	350	29.9	0.99

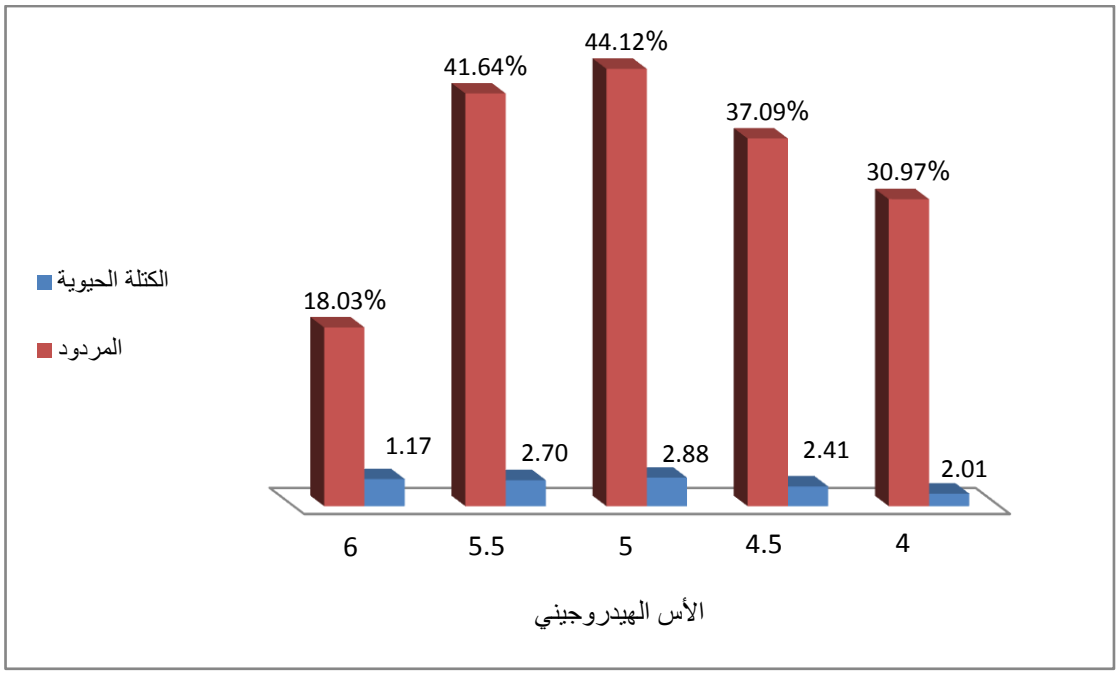
الجدول-46. تحديد نسبة اللاكتوز في الحليب باستخدام الريفراكتومتر

قرينة الإنكساربدرجة17.5م°	محتوى اللاكتوز%	قرينة الإنكساربدرجة17.5م°	محتوى اللاكتوز%	قرينة الإنكساربدرجة17.5م°	محتوى اللاكتوز%
1.3406	3.77	1.3416	4.28	1.3425	4.74
1.3407	3.82	1.3417	4.33	1.3426	4.79
1.3408	3.87	1.3418	4.38	1.3427	4.84
1.3410	3.93	1.3419	4.44	1.3428	4.89
1.3411	3.98	1.3420	4.49	1.3429	4.95
1.3412	4.08	1.3421	4.54	1.3430	5.00
1.3413	4.77	1.3422	4.59	1.3431	5.05
1.3414	4.18	1.3423	4.64	1.3432	5.10
1.3415	4.23	1.3424	4.69	الخ	الخ

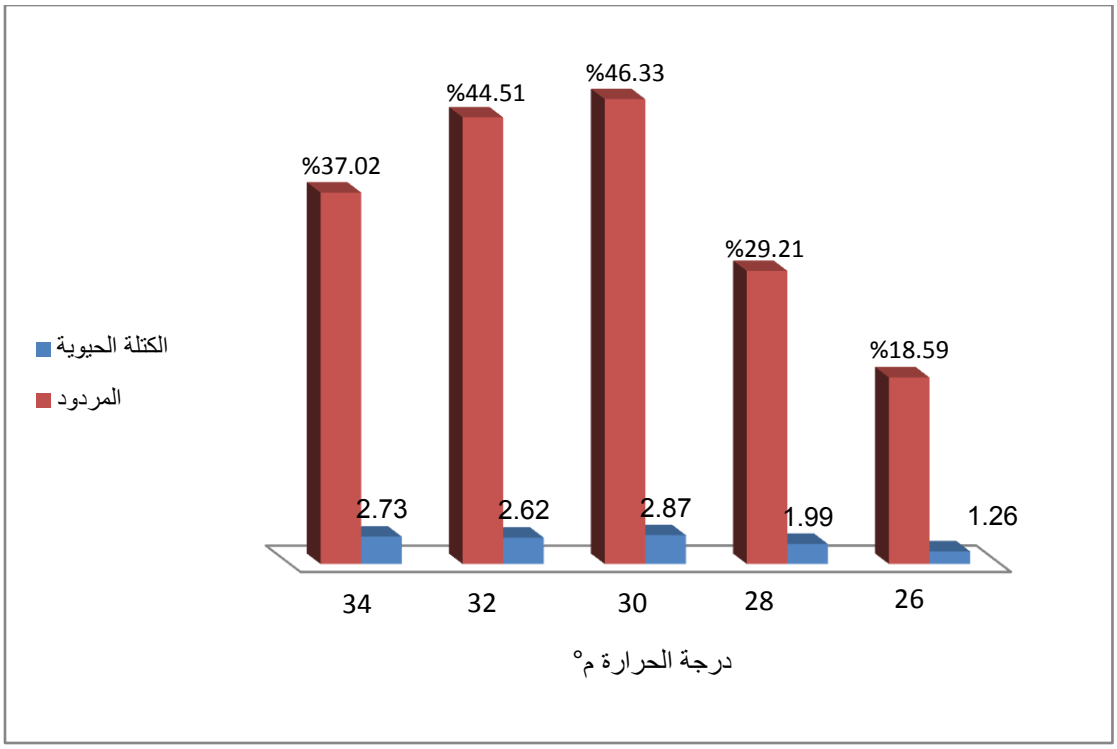
الشكل-14 . خلايا وحدة التخميرالتجريبية (electrolab)



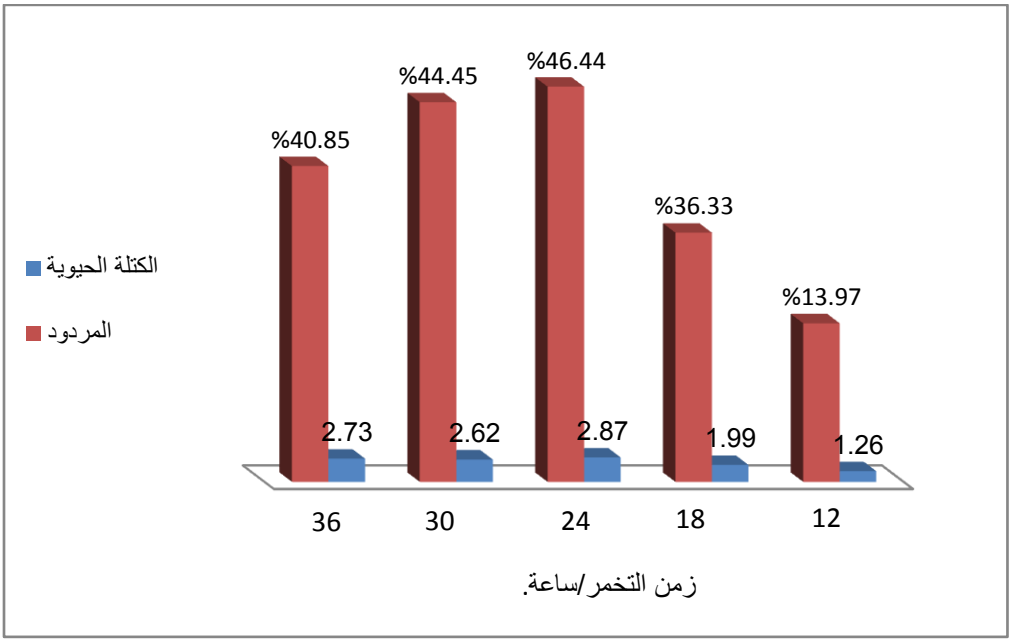
الشكل-15 . تأثير تركيز اللاكتوز في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis*



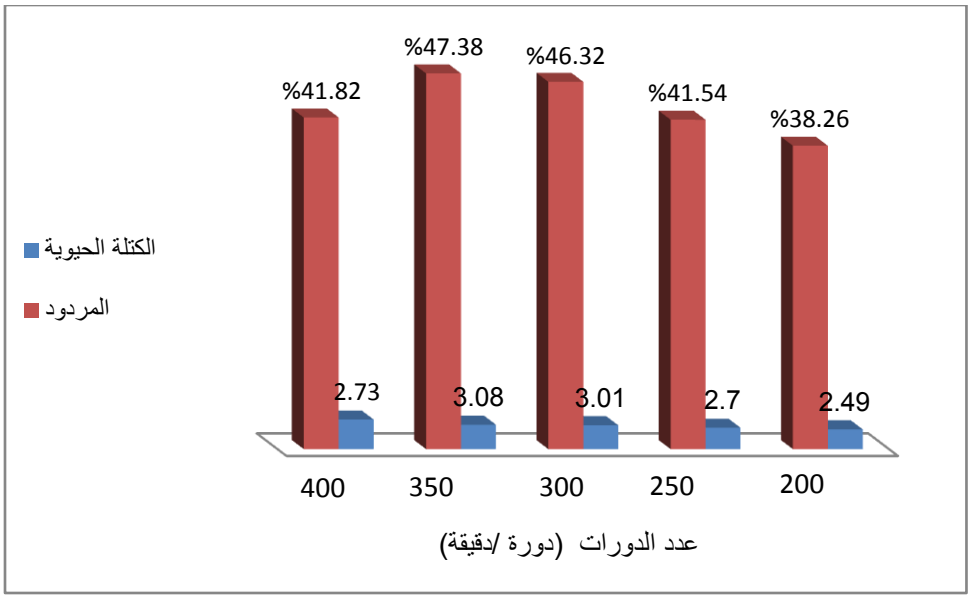
الشكل-16 . تأثير الأس الهيدروجيني في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis*



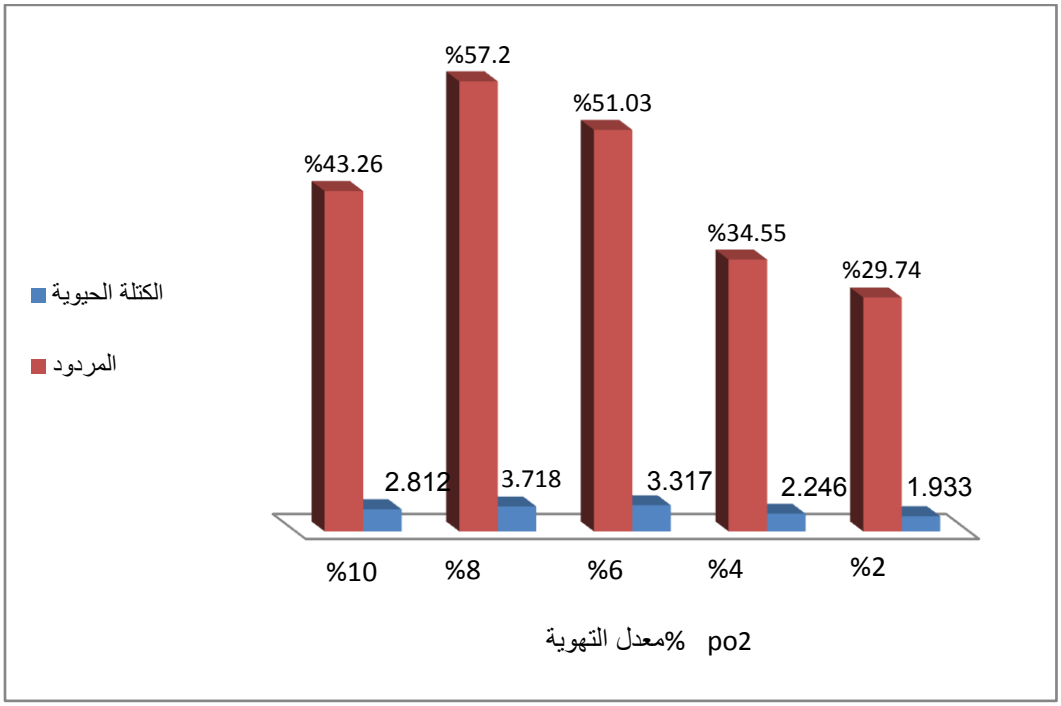
الشكل-17 . تأثير درجة الحرارة في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis*



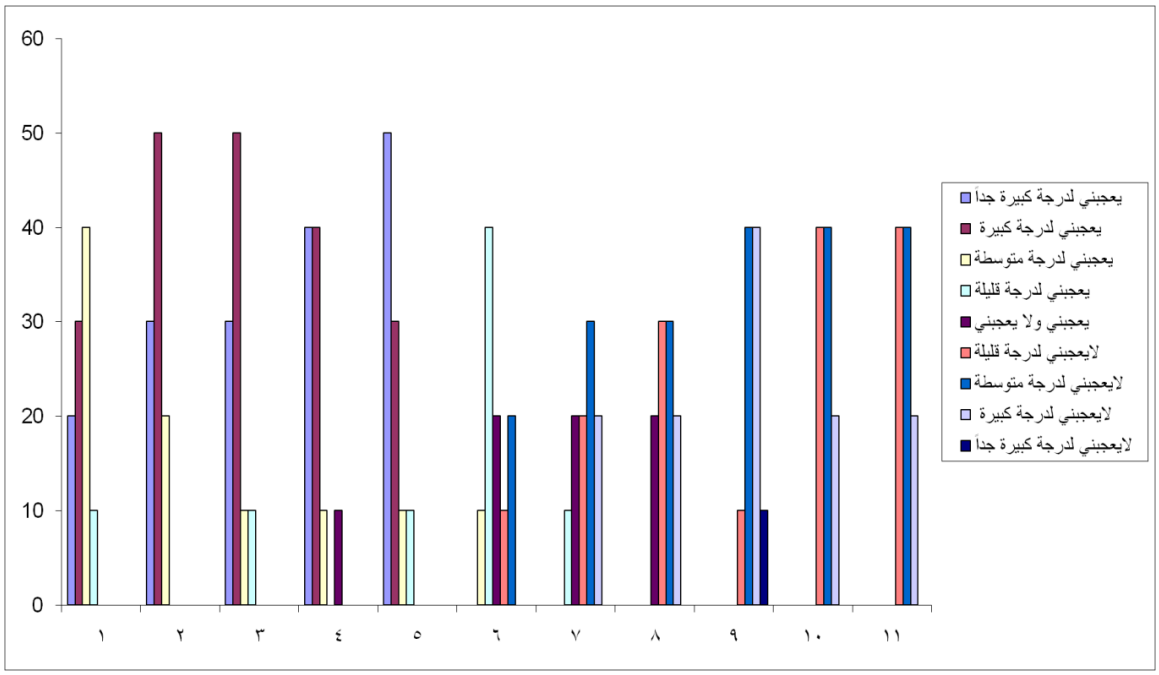
الشكل-18 . تأثير زمن التخمر في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis*



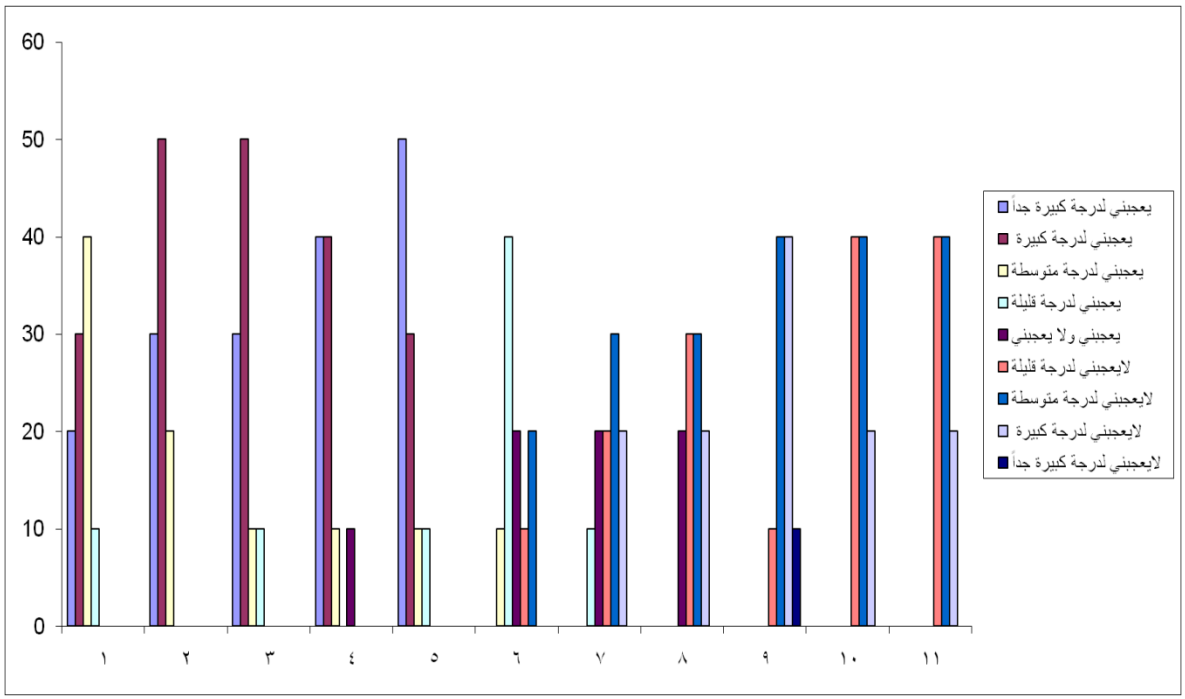
الشكل-19 . تأثير تغيرعدد الدورات في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis*



الشكل-20 . تأثير معدل التهوية في إنتاج الكتلة الحيوية والمردود لخميرة *K.lactis*



الشكل-21 . مخطط استبيان تقييم المستهلك لعينات اللبنة



الشكل-22 . مخطط استبيان تقييم المستهلك لعينات الجبنة القابلة للمد

8- الإصطلاحات العلمية

BOD: الأكسجين المتطلب بيوكيميائياً

يعبرعن متطلب الأكسجين الكيميائي الحيوي وهو كمية الأكسجين المستهلكة من قبل الكائنات الحية في ليترواحد من الماء وقد تم الإتفاق أن يكون الزمن المحتاج لهذه العملية هوخمسة أيام ، وفي الدرجة 20C° .

COD: الأكسجين المتطلب كيميائياً

يعبرعن كمية الأكسجين اللازمة لأكسدة المركبات العضوية في ليترواحد من الماء, ويستعاض عن الأكسجين في أكسدة المركبات العضوية بمواد مؤكسدة أخرى , ويحسب مايستهلك من هذه المواد,وما تكافئه من الأكسجين، وأهم المواد المستخدمة لهذه الغاية هي برمنغنات البوتاسيوم ، وثاني كرومات البوتاسيوم حيث تتحول المركبات العضوية بعملية الأكسدة إلى مركبات نهائية مثل NO2 و CO2 .

UF:الترشيح فوق العالي

عملية فصل لمكونات السائل تتم بواسطة الأغشية البوليميرية أو السيراميكية على سطح الغشاء وتحت ضغط منخفض نسبياً حيث يتم فصل المكونات العالقة التي يبلغ وزنها الجزيئي 103 – 106 دالتون من المحلول وحجمها الجزيئي 0.001 – 0.02 ميكرومتر.

SCP: البروتين وحيد الخلية

إصطلاح علمي إتفق فيه العلماء على تسمية خلايا البكتريا والفطوروالخمائر والطحالب الجافة التي تم إكثارها على مخلفات زراعية أو صناعية (هيدروكربونية أو كربوهيدراتية) ويكون ناتجها كتلة حيوية غنية بمحتواها البروتيني اسم البروتين وحيد الخلية SCP (Single-Cell Protein).

المراجع العلمية

References

9 - المراجع العلمية REFERENCES:

-ابراهيم, سعاد عبد الفتاح و عادل على, قنديل و صوفى الديرى. 1994 .اللبنة بطريقة التحميض المباشر, المجلة المصرية لعلوم الآلبان , 22 :263 – 253 ,جمهورية مصر العربية.

- اسماعيل ,علي, .و سامية , حربي,.و عايدة, سليمان سالم.2010.إنتاج لبنة ذات نكهة ومدة حفظ طويلة,قسم ميكروبيولوجيا وتكنولوجيا الألبان, معهد بحوث الانتاج الحيواني , جمهورية مصر العربية.

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

- اسماعيل ,مجدي محمد.,ومحمودسلامة.2005 .إنتاج وتصنيع الأجبان في الوطن العربي, صناعة الجبن في الوطن العربي,مكتبة الدار العلمية القاهرة,الطبعة الأولى ,ص478-489.

-الباقوني رياض،سعد مطانيس .1996. كيمياء الأغذية – القسم العملي جامعة البعث – كلية الهندسة الكيميائية والبترولية ,منشورات جامعة البعث .

- الخلايلة, نزيه إبراهيم وأنطون طيفور. 2011. دراسة تصنيع الجبن المطبوخ القابل للمد باستخدام الأجبان المحلية (البيضاء, القشقوان, القريشة) كمواد أولية,مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية,المجلد27,العدد1,الصفحات 391-403.

- الخياط ,غسان حمادة .1991. الصناعات الميكروبيولوجية (الجزء النظري) ,مطبعة الإتحاد منشورات جامعة دمشق.كلية الزراعة.

- الفراجي، جمال خلف عطية . 2006. إنتاج معززات حيوية وبروتينات وحيدة الخلية من خميرة الخباز . *Saccharomyces cerevisiae* وبكتريا حمض اللبن *Streptococcus thermophills* واختبارها تغذوياً في نمو اصبعيات الكارب العادي *Cyprinus carpio*l ،اطروحة دكتوراه ، كلية الزراعة ، جامعة بغداد.
- 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.
- المواصفة القياسية السورية .1999 . الحليب الم جفف, الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس , وزارة الصناعة, دمشق, الجمهورية العربية السورية رقم387 .
- المواصفة القياسية السورية .1986 . الجبن المطبوخ, الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس , وزارة الصناعة, دمشق, الجمهورية العربية السورية رقم 404.
- المواصفة القياسية السورية .1985 . السمن الحيواني, الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس , وزارة الصناعة, دمشق, الجمهورية العربية السورية رقم370 .
- المواصفة القياسية السورية. 1984.اللبن المصفى. الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس, وزارة الصناعة , دمشق, الجمهورية العربية السورية رقم 178.

- المواصفة القياسية السورية .1981 . الزبدة البقرية, الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس , وزارة الصناعة, دمشق, الجمهورية العربية السورية رقم .196 .
- المواصفة القياسية السورية الخاصة,. 1980. الحليب الخام, الهيئة العامة للمواصفات والمقاييس , وزارة الصناعة , دمشق, الجمهورية العربية السورية رقم.194.
-المجموعة الإحصائية السورية. 2011 .الهيئة العامة للتخطيط, المكتب المركزي للإحصاء- دمشق, الجمهورية العربية السورية.
- النمر, طارق مراد . 2003. التصنيع اللبني (الأساسيات –التقنيات) , قسم علوم وتكنولوجيا الألبان –كلية الزراعة- جامعة الإسكنرية, مكتبة بستان المعرفة للطبع والنشر جمهورية مصر العربية .
- الهدمي جواد .1998 . توفير مصادرغير تقليدية للبروتين الحيواني في الأعلاف بالإستفادة من مخلفات البترول، مجلة دواجن الشرق الأوسط-العدد 35:138-148.
- بريشة ,جابرزايد. عادل محمود, حماد. عبد الوهاب ,عبد الحافظ, . 2002.أساسيات الميكروبيولوجيا الصناعية ,الدار العربية للنشر والتوزيع –جمهورية مصر العربية.
- بياعة, بسام.و مصطفى, البلخي , الأحياء الدقيقة .1996. منشورات جامعة حلب , كلية الزراعة –مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية,جامعة حلب.
- حرفوش, محسن رجب . 2011.تكنولوجيا الألبان,القسم العملي, منشورات جامعة تشرين,كلية الزراعة, قسم الإنتاج الحيواني,مديرية الكتب والمطبوعات, جامعة تشرين.
- حمد, محمد نزار.1992.تقانة تصنيع الأغذية وحفظها دمشق 807 ص.سوريا

- زيدان ,إبراهيم عبد الله . 2004.المواصفات القياسية لمنتجات الألبان الغذائية بين الواقع والمأمول .قسم علوم وتكنولوجيا الألبان –كلية الزراعة جامعة الإسكندرية ,جمهورية مصر العربية.
- سليق , سمير وصياح أبوغرة,وعهد أبويونس .2010 .دراسة بعض الخصائص الكيميائية والميكروبيولوجية لكرات اللبنة المحفوظة بزيت الزيتون, مجلة جامعة دمشق,للعلوم الزراعية, 26:177-190.
- سليق, سمير ,و عبد الحكيم عزيزية ،و عهد أبو يونس,و ندا شمبورش .2011 .التصنيع الغذائي –الجزء العملي ، جامعة دمشق ،كلية الزراعة.
- سليق, سمير,و أنطون طيفور,و عهدأبويونس . 2009. .تكنولوجيا الألبان–منتجات التخمر– الإختبارات الكيميائية والميكروبيولوجية–جامعة دمشق.
- شحاتة،عبده السيد.1997 .تكنولوجيا الجبن.المكتبة الأكاديمية.مصر
- شعار, محمد علي و رمضان, عطرة. 2006.إنتاج حمض اللبن من مخلفات صناعة الألبان,مجلة جامعة البعث للعلوم الهندسية ,المجلد28 –العدد 6، ص 127- 144.
- صادق, شريف . 1993 .علم الأحياء الدقيقة منشورات جامعة البعث,كلية الهندسة الكيميائية والبترولية,مديرية الكتب والمطبوعات الجامعية ,ص 50-58.
- طوقان , سلمى وحميض ,محمدوالخلايلة ,نزيه . 1998.تطوير الجبن المطبوخ القابل للدهن من الجبنة البيضاء المحلية واللبنة,دراسات العلوم الزراعية,المجلد25,العدد3 ص 416-424.
- طيفور, أنطون. 2008. تحديد الشروط المثلى لتجزئة بروتينات المصل باستعمال بأغشية ترشيح من السراميك) مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية,المجلد 24 العدد 1 الصفحات 203 – 215.

- طيفور, أنطون. 2006. تجزئة بروتينات المصل باستخدام أغشية ترشيح جديدة,مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية,المجلد 22–العدد1,الصفحات211-221.
- طيفور أنطون.1988–الألبان –إنتاج وتصنيع الحليب ومشتقاته, منشورات جامعة دمشق.
- عطرة ،رمضان. 2000.استخدام نظم الفصل الغشائي في صناعة الألبان، أطروحة دكتوراه، جامعة بودابست التقنية، هنغاريا.
- عطرة ،رمضان و مصطفى, صطوف . 2005. تحسين نوعية الخبز باستخدام مصل الجبن , مجلة جامعة البعث للعلوم الزراعية, المجلد 28 – العدد 4.
- عطرجي، فاطمة محمد. 1995 . إنتاج الحامض الأميني لـ–ليسين من مخلفات الصناعة في المملكة العربية السعودية ، رسالة دكتوراه ، كلية التربية للبنات بجدة ،المملكة العربية السعودية.
- قشاري, محمدقربان. 1997. دراسات على كفاءة الخمائروالأكتيوميسنات في الإستفادة من مصل اللبن , مجلةجامعة الملك عبد العزيزآل سعود.المملكة العربية السعودية.
- قشقري , رقية محمد.2007 .إنتاج البروتين وحيد الخلية بإضافة الشرش أوحبة البركة إلى إلى مستخلص التمور, قسم النبات والأحياء الدقيقة ,كلية التربية للأقسام العلمية بجدة.
- مهنا، نبيل. 2002 .التصنيع والخواص الوظيفية لبروتينات اللبن،جمهورية مصر العربية–منشأة المعارف – الإسكندرية،309 صفحة.

- نقشو نسرين .2000. إكثار الخمائر العلفية من نوع *Candida. utilis* على المولاس والمخلفات النشوية, المؤتمر العربي الثاني للوراثة والتكنولوجية الحيوية . المنيا- جمهورية مصر العربية , 2 : 329-343 .
- هدّال,أحمد.2011 . دراسة بعض الخصائص الكيميائية والميكروبية للجبنة الشركسية, مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية,المجلد27 العدد 2 الصفحات 183 -194.

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

Abou – Donia S.A. 2004. Recent Developments in Zabady and Egyptian Labneh Research, A review. Egyptian of Dairy Science., 32 : 1-15.

Abou – Donia, S.A., Attia, I.A., Khattab, A.A. and El – Khadragy, S.M (1992a) Characteristics of Labneh manufactured using different lactic starter cultures Egyptian J. Food Sci. 20 : 1.

Abou-Donia,S.A.1991 Manufacture of Egyptian , Soft,Pickled cheeses , in Feta cheese and Related cheeses (eds R.K Robinson and A.Y. Tamime), Ellis Horwood,London. P. 126-138.

Abo Hamed, N. A. A. 1993[a]. "Biosynthesis of Single Cell Protein (SCP) by Yeasts from Crude Chicken Waste", Qatar University Science Journal, , Vol. 13, No. 2, Pages 238-242.

Abo-Hamed.N.A.A. 1993[b]. Microbial utilization of some agricultural and agro- industrial waste production for the production of single cell protein (SCP). Qatar Univ. Sci. J. 13 (2): 226.

Abou – Jdayil, B. and Mohameed, H. 2002. Experimental and modlling studies of the flow properties of concentrated yogurt as affected by the storage time. Journal of Food Engineering, 52(4) : 359-365.

Afnor, .(1993).Controle de la qualite des produit salimentaires .Lait et produitslaitires .Analyse physic-chimic, partie 4-Analyse Sensorielle (norms francaises).

Ahmed . I, Morris .D.1991. Trends in Cheese whey production and Utilization An Alternte Feedstook for Alcohol Fule Production in the United StatesWashington.DC; Institute for Local Self-Reliace,pp1-19.

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.

Al – Kadamany, E., Khattar, M., Haddad, Th., Toufili, I. 2003. Estimation of Shelf life of concentrated yoghurt by monitoring selected microbiological and physicochemical changes during storage, labeh smittel – Wissen Schaft und – Technologie 36(4) : 407-414.

Al-Kadamany E., Toufeili I., Khattar M., Abou- jawdeh Y., Harakeh S.,Haddad T. 2002[a]. " determination of sheff life of concentrated yogurt (labneh) produced by In- Bag straining of set yogurt using hazard analysis"J. Dairy Sci. 85: 1023- 1030.

Al – Kanhal, H.A. (1993). Manufacturing methods and quality of Labneh Egyptian J. Dairy Sci. 21 : 123.

Alan ,R. and Derek,L.F. 1986 . Culture Collection Labboratory . in: Principles of Industrial Microbiology. Pp 36-44, Pergamon Press,new York .

Al – Otaibi, M. (1997). Studies on the Effect of Starter Cultures and Some Other Factors on Yoghurt (Zbadi) Properties M. Sc. Research Thesis. Abstracts Scientfic Research, Collage of Agriculture Sciences and Food King Faisal University, 154-156.

Alvarez, R. and A. Enriquez, 1988. Nucleic acid reduction in yeast. Applied Microbiol. Biotechnol., 29: 208-210.

Al–Shawabek, A . F . 2008 . Evaluation of the chemical and sensory attributes of solar and Freeze-oried Jameed produced from cow milk, American Jorunal of agricultural and Biological Science, 3: 632-726

Anupamaa and P. Ravindra,.2000. Value-added food: Single cell protein, Centre for Biotechnology, Jawaharlal Nehru Technological University, Mahaveer marg, Hyderabad 500 028, India.

Anon,.1975. Continuous Fermention of milk with Yeast in Austia, Deutche ,Molkorei-Zeitung 96(50): 1956-1965.

Anthony, R.1999. Fermentors: Design Operation and Application .in Fermention Microbiology and Biotechnology padstow,UK.P:9-46.

Amer S.N, Girgis Es, Taha S.H and Abd- El- Moeety S.H (1997) Effect of Milk Total Solids and Type of Starter on the Quality of Labneh, Egyptian Journal of Dairy Science 25 179-192

AOAC.Association of Official Analytical Chemists. 2002. Offical Methods of Anlalysis 18th Ed Margland:AOAC international.

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).

Athanasios, A. K.; Papa postolau, H.; Dimitr cllou, D.; Kopsahelis, N.; Katechaki, E.;Bekatorou, A. and Bosnea, L. A. 2009. Whey valor Sation : a complete and noveltechnology development for dairy industry starter culture production. BioresourceTechnol., 100 (15): 3734-3739.

Banks, J.M. 1990 . Improving cheese yield by the incorporation of whey production . Dairy Ind . Inter . , 55 : 37

Baig, T.T., Sheik, M.A., and Ali,S.M. 2002. Bio Conversion of Filter Press cake (Mud), of Sugar can to Biomass Protien and its biological Evaluation.pak. J.Bio. L.Sciences.5(10):1052-1055.

Balagtas. J. V, Hutchinson .F. M, Krochta. J. M, and Sumner. D. A. 2003. Anticipating Market Effects of New Uses for Whey and Evaluating Returns to Research and Development Journal American Dairy Sci Science Association 86: 1662-1672.

Bartkeviciute. D & Sasnauskas. K .2003. Studies of yeast *Kluyveromyces lactis* mutations conferring super-secretion of recombinant proteins. Yeast 20: 1–11.

Bandura DR, Baranov VI, Ornatsky OI, Antonov A, Kinach R, Lou X, Pavlov S, Vorobiev S, Dick JE, Tanner SD.2009. Mass cytometry: technique for real time single cell multitarget immunoassay based on inductively coupled plasma time-of-flight mass spectrometry. Anal Chem, 81:6813-6822.

Barraquio.V.L; Silverio.L.G; Revilleza.R.P; Fernandez.w.L .2001., Production of protein-rich animal supplement from whey Bicutan, Taguig, Metro Manila (Philippines)p.56-57.

Barth, C.A.,Behnke U. 1997.Nutritional physiology of whey and whey components German.j.Nahrung. 41:2-12.

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.

Berrette, J.; Champagne, C.P. and Goulet, J. 2001.Growth-Promoting propertiesof yeast extracts produced at different pH values with different autolysis promoters andbacterial populations. J. chem. Technol. And Biotech, 76 (2): 203-209.

Bernhardt, H.W.; Proudfoot, S. 1995. Production of single cell protein from sugarcane bagasse; Proceeding XXI Congress of the International Society of Sugar Cane Technologists.Kasetsart Univ, Bangkok (Thailand). 1995. p. 659-1156. p. 1062-1071.

Berg, J.A. van den, Laken, K.J. van der, Ooyen, A.J.J. van, Renniers, A.C.H.M., Rietveld, K., Schaap, A., Brake, A.J., Bishop, R.J., Schultz. K., Richman, M. and Schuster, J.R. 1990. *Kluyveromyces lactis* as a host for heterologous gene expression: Expression and secretion of prochymosin. *Bio/Technology* 8, 135-139.

Berger,W.H.K.Menich,and Uhlmann .1998 .Process cheese Manufa-cture Ajoha Guid.BK Guilini chemie. Germany.231-245.

Ben. Hassan, R.M. and Ghaly, A.E. 1994.Aontinuous propagation of *Kluyveromyces fragilis* in cheese whey for pollution potential reduction. Appl. Biochem. Biotechnol., 47; 89-104.

Bhalla,T.C.; Joshi.M. (1994).; protein enrichment of apple pamace by –co-Culture of cellulolytic mould and . yeasts,World Journal of Microbiology And Biotechnology. 10(1): 116-117.

Bonczar, G. ;Walczycka, M; Gamrat, M; Janiec, J and Szpak, B. 2001.The influence of some factors on texture of fresh cheese. Journal of Polish Agricultural Universities,Food Science and Technology Volume4,Issue2.p112-124.

Booij, A.J. 1985. Use of lactose in the pharmaceutical and chemical industry.J. Soc.Dairy Technol.,38:105-109.

Bowen J, Noakes M, Clifton P. 2003. Whey Protein and body fat loss. AsiaPac Journal Clinical Nut.; 12:S9.

Bonekamp, F.J. and Oosterom, J. (1994) On the safety of *Kluyveromyces lactis*: a review. *Appl. Microbiol. Biotechnol*. 41, 1-3.

Bruhn,C and Frank,A.1991.Raw milk composition and cheese yield in California .*Journal of dairy science* .74(3):1108-1114.

Byund, G, .1995.- Dairy Processing Hand Book Tetra Pak Processing Systems ABS-22186 Lun, Sweden.

Caric,M.(1993).Processed,cheese,product,Incheese:Chemistry,Phsics,& Microbiology.p476-505 .Volum .2.p.f ed .chapmonand hall,New York.

Carunchia Whetstine. M. E., Parker J. D., Drake. M. A., and Laric. 2003. D. K. Determining Flavor and Flavor Variability in Commercially Produced Liquid Cheddar WheyJ Dairy Sci 86: 439-448.

Castillo, F. J. (1978) . Studies on the growth of *Kluyveromyces fragilis* inWhey for the production of yeast protein . Acta Cient Venez Journal . **29** : 113-118 .

Cavaille,D. and Combes,D. 1995. Characterization of b- galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *Biotechnology and Applied Biochemistry,* Vol.22,no.1,p.55-64.

Castro, H.T.; Garibay, M.G.; castafieda, G.S. 2008.Lactose production by solid-state cultivation of *Kluyveromyces marxianus* CDBBL 278 on an inert support: Effect.

Chamber,M.,Daurelles,j.2000. Processed chesse in cheese making,from Science to quality assurance ed ,A.Eck,Gillis,Lavoisier publishing Inc,paris pp,641-657.

Chandrani-Wijeyaratne, S. and A.N. Tayathilake,. 2000. Characteristics of two yeast strain (*Candida tropicalis*) isolated from *Caryota urens* (Khitul) toddy for single cell protein production. J. Natl. Sci. Found. Sri Lanka, 28: 79-86.

Chen X, Gao B, Shi W & Li Y .1992.Expression and secretion of human interferon alpha A in *yeast Kluyveromyces lactis*. Yi Chuan Xue Bao 19: 284–288.

Christensen,A.;Psarianos.,C. and Koutinas,A. 2003. Production of food Grade Yeasts. Food Technol.Biotechnol Vol44(3):407-415.

Codex 2003, Codex Standard for Fermented Milk, Codex Stan 243-(2003), Italy, Roma.678- 689

Coton,S.G. 1980.,The Utilization of Permeates from Ultrafiltration of Whey and Skim Milk Journal of the Society of Dairy Technology, 33(3): 89-94.

Colussi, P.A. and Taron C.H. 2005a. *Kluyveromyces lactis LAC4* promoter variants that lack function in bacteria but retain full function in yeast. *Appl Environ Microbiol* 71, 7092-7098.

Colussi, P.A., Specht, C.A., and Taron, C.H. 2005b. Characterization of a nucleus-encoded chitinase from the yeast. *Kluyveromyces* Lactis *Appl Environ. Microbiol.* 71:2862-9.

Cooney.C.L.Rha,C. and Tannenbaum, S.R. 1980. Single Cell Protien Engineering economics and utilization in foods.Adv.Food Res.26.166-178.

Croissant.A, Kang, E. J. Campbell, R. E. Bastian, E. and. Drake M.A . 2009.The effect of bleaching agent on the flavor of liquid whey and whey protein concentrate J Dairy Sci 92: 5917-5927.

Cristiani-Urbina, E.; Netzahatl-munoz,A.R; Maanriques-Rojas,F.J.; Juarez-Ramirez.,C.;Ruiz-Ordaz,N.and Galndez-Mayer,J. 2000. Batch and Fed- Batch culture for the treatment of whey with mixed yeast cultures. Process Biochemistry,February ,vol.35,no7,p.649-657.

Dagher, S. and Ali, A. (1985). Effect of Pasteurization, Centrifugation and additives on quality of concentrated yoghurt (Labneh). J. Food Prot. 48 : 300-302 .

Dharumadurai.D, Subramaniyan. L, Subhasish. S, Nooruddin T,Annamalai. P,.2011. Production of single cellprotein from pineapple waste using yeast, Innovative Romanian Food Biotechnology, 8: 26-32.

Duangjai-Ochaikul; Marisa-Jatupornpipat. 1998. Single cell protein from potato processing wastewater by Candida tropicalis TISTR 5136

Congress on Science and Technology of Thailand. Bangkok (Thailand).12: 19-21.

Eberhard, D.G. & Albrecht, B. 2007. Rhelogical characterization of set yoghurt produced with additives of native whey proteins, International Dairy Journal. 51: 386-390.

Ekmekci,S and Cevik,S. 1989. The production of single cell protein by *Saccharomycescerevisiae.* J. Fac.Sci. Ege. Univ. Ser.B. 11(1) 35-38.

El – Samragy, Y.A. and Zall. R.R. (1988). Organoleptic Properties of he yorghurt-cheese Labneh manufactured using ultrafilteration Dairy Ind. Int. 53(3) : 27.

El – Samragy Y.A., El – Sayed M.M and Abd – Rabou N.S. (1997) Nutritive Value of Labneh as affected by processing method Egyptian Journal of Dairy Science 25 : 85-97.

El- Sabaeny, A.H. 1996. Influence of medium composition on lactc acid Production from dried whey by *Lactobacillus delbrueckii*. Microbiologia12(3):411-416.[C.F.Dairy Sci.Abstr.,59(10):5231,pp.688.].

El-assar,S.A.;.2006. Submerged fermentation of chesse whey and Molasses For Citric acid production by *Aspergillus .niger* International Journal of Agriculture and Biology.8(4):463-468.

Feng Y.M, Zhang B.Y, Zhang Y.S & Hiroshi F .1997. Secretory expression of porcine insulin precursor in *Kluyveromyces lactis* and its conversion into human insulin. Sheng Wu Hua Xue YuSheng Wu Wu Li Xue Bao 29: 129–134.

Fisher, M.A.2006. Stirred –Tank Bioreactor ,Bioprocess International 4(6):S28-S30.

Fleer, R., Yeh, P., Amellal, N., Maury, I., Fournier, A., Bachetta, F., Baduel, P., Jung, G., L'Hote, H., Beccquart, J.,. 1991a . Stable multicopy vectors for high-level secretion of recombinant human serum albumin by *Kluyveromyces lactis yeasts*. *Bio/Technology*. 9: 968-975.

Fleer R, Chen XJ, Amellal N, Yeh P, Fournier A, Guinet F, Gault N, Faucher D, Folliard F & Fukuhara H .1991b. High-level secretion of correctly processed recombinant human interleukin-1 beta in *Kluyveromyces lactis*. Gene 107: 125–295.

Fox,P.F, and McSweeney,P.L. 2004. Cordoba Argentina Cheese :An verview . IN,Fox,P.F, McSweeney,P.L.,Timothy,M.C. Timothy,P.G.,(E DS) Cheese: Chemistry ,physics and Microbiology (3nd)London,UK, Elservire academic press, 11- 18.

Fox, P.F. 2003. The major constituents of milk in Dairy processing, Elsevier Applied Science Publishers Ltd, London and New York, 5-38.

Fox,P.F., Guinee,T.P.,Cogan,T.M.,and McSweeney,P.L.2000.proceesed Cheese and substitute or imitation cheese product,in fundaments of Cheese Science ,Aspen publisher ,Inc Gaitherberg ,Maryland,429-451.

Fox, P. F., T. P. O'Connor, P. L. H. McSweeney, T. P. Guinee, and N. M. O'Brien. 1996. Cheese: Physical, biochemical, and nutritional aspects. Adv. Food Nutr. Res. 39:163–328.

Garcia. J.L. 1981. Utilization of deproteinized whey and nitrogenous waste Materials. by yeast Alimentria 119:65-69.

Ganatra' M.B., Vainauskas S., Hong, J.M., Taylor, T.E., Denson, J.M., Esposito, D., Read, J.D., Schmeisser, H., Zoon, K.C., Hartley, J.L. and Taron, C.H. 2010.A set of aspartyl protease-deficient strains for improved expression of heterologous proteins in *Kluyveromyces lactis*. *FEMS Yeast Res*.

Gashgari, R. 1999. Single cell protein production by dates in Saudi Arabia, a preliminary study. Egypt. Journal . of Biotechnology.39(2):209-217.

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 .

Gellissen, G . 2000. Heterologous,protein production in methlotrophic Yeasts Appl Microbiol Biotechnology.8:349-362.

Ghaly,A.E.; Kamal,M. and Avery.A. 2004. Influece 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 chesse whey for Single Cell Protein Production ,Bioresour Technology.96(10):1143-1152.

Ghanem K. M. 1992."Single Cell Protein Production From Beet Pulp By Mixed Culture", Qatar University Science Journal, Vol. 12, Pages 85-88.

Gilles, J. and Lawrence, R.C. (1981) The manufacture of cheese and other fermented products from recombined milk. N.Z.J. Dairy Sci. Technol. 16 : 1.

Gilliland, F.S. (1998). Fermented milks and probiotics p. 195-212 In E. H. Maith and J.L. Steele (ed.), Applied dairy microbiology Mareel Dekker, Inc., New Yourk.

Glover F. A. 1986. Ultrafiltration and Reverse Osmosis for the Dairy Industry, The National Instite for Researching in Dairying, England.189-237.

Gonzalez – Martinez, C., Becerra, M., Chafer, M. Albros, A., Carot, J.M., and Chiralt, A. 2002. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. Trends in Food Science & Technology. 13(9-10): 334-340.

Gonzalez-Siso, M.I.2000., *Respirofermentative metabolism in Kluyveromyces lactis: Insights and perspectives*. Enzyme Microb Technol,. 26(10): 699-705.

Gonzalez-Siso, M.I., Becerra, M., and Cerdan, E. 2000. Heterologous *Kluyveromyces lacti*s beta-galactosidase production and release by *Saccharomyces cerevisiae* osmotic remedial thermosensitive autolytic mutants. Biochim Biophys Acta 61335 3, pp. 235–241.

Gonzalez-Siso, M. I., Ramil, E., Cerda´n, M. E. andFreire-Picos, M. A. 1996. Respirofermentative metabolism in *Kluyveromyces lactis*: ethanol production and the Crabtree effect. *Enzyme Microb. Technol.* 18: 585–591.

Gonzales Siso, M.I.1996. The biotechnological utilization of cheese whey. A review. *Bioresearch Technology,* , 57: 1-11.

Goertz, C, Baes, C. Weimann, N. Reinsch, and Erhardt , G. 2009. Association between single nucleotide polymorphisms in the *CXCR1* gene and somatic cell score in Holstein dairy cattle Journal Dairy Science 92: 4018-4022.

Gregorio,A.D.; Mandalari,G.; Arena, N.; Nucita,F.; Tripodo.,M.M.; and Curte.,R.B.; 2001. SCP and Crud Production by Slurrystate fermntionOn Lemon pulps . Bioresource Technology. (83): 89-94.

– Guimaraes, P. M. Teixeira, J. A. Domingues, L. 2010. Fermentation of lactose to bio-ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey, Electronic Table of Contents (ETOC) (United Kingdom) . 236-251.

Guinee,T ; O'Kennedy,B. and Kelly,P.2006. Effect of Milk Protein Standardization Using Different Methods on the Composition and Yields of Cheddar Cheese .Journal of dairy science. 89:468-482 .

Haddad, Y., Haddad., J., Olagi, A., Shuayto, N., Haddad, T., and Toufeili, I. 2007. Mapping determinate of purchase intent of concentrated yoghurt (Labneh) by conjoint analysis. Food Quality and preference 18 : 795-802.

Han,Y.W.;Dunlap,C.E .; and Callahan,C.D.,.1971. Single Cell Protein From cellulosic wastes Food .Technology 25:130-138.

Harender,R.G.; Guleia,S.P.; and Parmar, Y. S; .2007. Single cell protein ,Science Technology Entre preneur Journal 63: 47-51.

Hassan Moeini, Iraj Nahvi, Manoochehr Tavassoli. 2004.Improvement of Production and BOD removal of whey with mixed yeast culture ,Electronic Journal of Biotechnology ISSN:0717-3451.

Haynes, I.N.,and Playne,M.J.2002.Survival of probiotic cultures in low fat ice-cram ,Australian Journal of Dairy Technology,57,10-14.

Henning D. R., Baer R. J., Hassan A. N. and Dave R. Major. 1999. Advances in Concentrated and Dry Milk Products, Cheese, and Milk Fat-Based Spreads, University of Minnesota, St Paul, MN 55108, USA department of Food Science, University of Guelph, Canada Author for correspondence. Society of Dairy Technologyp :452-498.

Hernandez A. and Harte F. M. 2009. Isolation of caseins from whey proteins by microfiltration modifying the mineral balance in skim milkJ Dairy Sci 92: 5357-5362.

Herrman,M. 1985. Ionenaustauscher-eine Moglichkeite der Entsalzung Beimilch und Milcherzeugnissen. Deutsche Milchwirtschaft,43:1435-1439.

Hoking.A.,and Pitt.J. 1997. Fungi and food spoilage. Blackie Academic Professional. p.366-368.

Hofi, M.A. (1988) Labneh (Concentrated Yoghurt) from ultrafilterated milk Scandinavian – Dairy – Industry, 2 : 50.

Hua Z, Liang X & Zhu D. 1994. Expression and purification of a Truncated macrophage colony stimulating factor inKluyveromyces lactis. Biochem Mol Biol Int 2: 419–427.

Huang B, Wu H, Bhaya D, Grossman A, Granier S, Kobilka BK, Zare RN.2007. Counting low-copy number proteins in a single cell. Science, 315:81-84.

Huang, Y.T. and J.E. Kinsella, 1986. Functional properties of phosphorylated yeast protein: Solubility, water-holding capacity and viscosity. J. Agric. Food Chem., 344: 670-674.

Hynes. E. R, Bergamini. C. V, Suárez. V. B, and Zalazar. C. A, .2003. Proteolysis on Reggianito Argentino Cheeses Manufactured with Natural Whey Cultures and Selected Strains of *Lactobacillus helveticus* J Dairy Sci 86: 3831-3840.

In,M.J.,and JIN,J . 1998. Characterization of b-galactosidase from *Bacillus* sp. with high catalytic efficiency for transgalactosylation . *Journal ofMicrobiology and Biotechology*, 8(4): 318-324.

Inchaurrondo,V.A; Flores, M.V. and Voget,C.E. 1998. Growth and b-galactosidase Synthesis in aerobic chemostat culturers of *Kluyveromyces lactis*. Journal of Industrial Microbiology and Biotechology, 20.(5): 291-298.

Ivarson.K.C and Morita.H,.1982. Single-Cell Protein Production by the Acid-Tolerant Fungus *Scytalidium acidophilum* from Acid Hydrolysates of Waste Paper, Chemistry and Biology Research Institute, Agriculture Canada, Ottawa, Ontario K1A 0C6, Canada, Contribution 1260 from the Chemistry and Biology Research Institute.p: 483- 536.

Iwata T, Tanaka R, Suetsugu M, Ishibashi M, Tokunaga H, Kikuchi M &Tokunaga M,.2004. Efficient secretion of human lysozyme from the yeast, Kluyveromyces lactis. Biotechnol Lett 26: 1803–1808.

Jain , D.K ;Tyagi ,R.D .;Kluepfel ,D.& Agbebavi, T.J . 1991 . Production of Propionic acid from whey ultrafiltrate by immobilized cells of Propionibacterium shermanii in batch Process. Process Biochemistry , 26(4) : 217 .C.F . Dairy Sci .Abstr., 54(2): 847 .

Jameson, G.W.and Lelievre, J. 1996. Effects of whey protein on cheese characteristics . Bulltin of the International Dairy Federation No.313-328.

Jay. J. 1996., Modern Food microbiology .fifth edition. Chaoman & Hall . NewYork.p:674-754.

Johnson ,M., and Lucey, J.2006.Major Technological Advance and Trendes in chesse, Journal Dairy Sci,89, 1174-1178.

Karthikeyan, S., Desai, H.K. and upadhgay, K.G. (1996) Quality of Chakka from Sweet Cream Buttermilk . Indian journal of dairy science 49, 613.

Khaled,G.; Francis,R. ; Ramadan,M. and Wasef,R. 1985. Amino acids content of single cell protein produced from rice husks hydrolysate medium. Annals of Agaicult.Sci.30(1):63-73.

Khalil, Samya, W.A. 2001. Selection of thermophilic starter culture for the manufacture of some fermented milks. M. Sci. thesis, Dairy Science & Technology, University of Alexandria.

Kim, J.K. and H.Y. Chung, 2001. Preservation of manipulated yeast diet. Aquac. Int., 9: 171-181.

Kinsella,J.E.1982. Relatioship between structure and functional properties of food protein .in: Food Protein Ed.P.F.Fox & J.J .Cowden. App lied Science Publisher ,London, pp.51-103.

Kjaergaard, J.G. and Oxlund, J.K. 1988. Concentration and drying of whey and permeates. Bull. Int. Dairy Fed., 238: 4-20.

Kosikowski, F.V. and Giec, A. 2006. Activity of Lactose Fermenting yeasts in producing biomass from concentrated whey permeates. J. Food Sci., 47, 1892-1894.

Kosikowski .F.V., .2004. Whey utilization and whey product department Of food Science, Corel University Ithaca. Dairy Science 87:1143-1150.

Kosikowski .F.V.,and Mistry V.V. 1997.Cheese and Fermented Milk Foods Volume1 :Origins and Principles .3rd ed Westport,Conn.

Kosikowski .F.V., .1982.Process Chess and related types, in Cheese and Fermented Milk ed., Kosikowski .F.V.2nd Food Asociates, New York,13:382-406.

Kumura H, Tanoue Y, Tsukahara M, Tanaka T & Shimazaka K.2004., Screening of dairy yeast strains for probiotic application. J Dairy Sci 87: 4050–4056.

Kunhi, A.A.M. and M.R.R. Rao, 1995. The utility of a fungal ribonuclease for reducing the nucleic acid content of permeabilized yeast cells. Food Biotechnol., 9: 13-28.

Larmond.E. 1982. Laborotory Method for Sensory evaluation .Canadian Dept. of agriculture publication No.1673.

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.,64:787-793.

Lee, B.H., 1996. Fundamentals of Food Biotechnolory. Wiley-VCH, New York. 64:374-381.

Linko, p. 1982.Lactose and Laactitol . In Nutritive sweeteners ,eds.G.O.; Birch & K.J. Parks.Applied Sci.,publishers,London,pp.109-131.

Liu,T.J.,Miura.,S.,Arimura,T.,Tei, M.Y.,Park,.E.Y., and Okabe.M.2005. Evaluation of L- lactic acid Production in batch, Fed batch,and continuos Cultures of Rhizopus sp MK-961196 using an air lift bioreactor, Biotechnology Bioprocess Eng 10(6): 522-527.

Lou X, Zhang G, Herrera I, Kinach R, Ornatsky O, Baranov V, Nitz M, Winnik MA.2007. Polymer-based elemental tags for sensitive bioassays. Angew Chem Int Ed Engl, 46:6111-6114.

Madsen , J.S. 1997. "Proeolysis of milk protein in relation to gel formation and Mozzarella cheese manufactured by ultra filtration ,Dairy of food science dairy technology.64:392–421.

Mahfouz, M.B., El – Dein, H.F. El – Etriby, H.M. and El – Khamy, A.F. 1992. The use of whey Protein concentrate in the manufacture of concentrated yoghurt (Labneh). Egyptian J. Dairy. Science .20 : 191-231 .

Mahmoud M.M, and Kosikowski F.V. 2005 .Alcohol and Single Cell Protein Production by *Kluyveromyces* in Concentrated Whey Permeates with Reduced Ash J Dairy Sci: 2082-2087.

Mansour,M.H.; Ghaly,A.E; Ben-Hassan,R.M. and Nassar, M.A. 1993., Modeling Batch production of single cell protein from chesse whey .I: *Kluveromyces fragilis* growth.Applied Biochemistry and Bio-Technology, October,vol .43,no. 1,p. 1-14.

Mawson. A.J .1994. Bioconversions for whey utilization and waste abatement. *Biores. Technol.* 47: 195-203.

Marteu, P., Pochart, P., Bouhnik, Y. and Rambaud, J.C. (1993) World Review of Nutrition and Dietectics, 74, 171-183.

Mayer,A.1973. Processed Cheese Manufacture ,Food Trad Press Ltd,London,UK.

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.

Menningmnn, J. S. 1999 .Submerged Fixed-bed Reactors . in Bio-Technology :Environmental Processes 1,Wastewater Treatment, (Winter,J.Ed.), Weinheim;VCH. 11: 311-347.

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.

Mille,B.M.and Litsky.w.1976.Single Cell Protien in Industrial Microbiology.McGrow-Hill Book Co.,New York.p:213-245.

Mishra, B .K.; Anju,U.A. and Lata ,a. 2004 . Optimization of abiological Process or treating potato chips Industry waste water using amixed culture Of Asspergillus Foetidus and Aspergillus Niger Bioresource Technology P: 94-98.

Mohameed, H., Abu – Jdayil, B. and Al- Shawabkeh, A. 2004. Effect of Solids Concentration on the rheology of Labneh (concentrated yoghurt) produced from sheep milk. Journal of food Engineering 61(3) : 347-352.

Moulin, G., Malige, B. and Galzy, P. 1983. Balanced flora of an industrial fermenter. Production of yeast from whey. *Journal .of Dairy Science*. 66 (1): 21-45.

Mozaffar, Z.; Nakanishi, K. and Matsuno, R. 2006. Formation of oligo Saccharides during hydrolysis of Lactose in mills using -glactosidaes from Bacillus. J. Food sci., 50 (6): 1602-1606.

Moreno-Indias.I, Castro.N, Morales-delaNuez.A, Sánchez-Macías.D, Assunção.P, Capote.J, and Argüello.A, 2009. Farm and factory production of goat cheese whey results in distinct chemical compositionJ Dairy Sci 92: 4792-4796.

Moon,N.J.; Hanmond,E.G.; and Glatz,B.A. 1978. Conversion of cheese Whey and whey permeate to oil and Single Cell Protein.J.Dairy Sci 61:1537-1547.

Muhammed B.F., Abubakar M.M. Adegbola T.A. and Oyawoye E.O. 2005"effects of culture concentration and inoculation temperature on physicochemical. microbial and organoleptic properties of yogurt" Nig.Food J. 23:156-165.

Nahvi,I. and M. H., ITavassoli. Moeini Tavassoli . Moeini . 2004. Improvement of (SCP) production and BOD removal of whey with mixCulture , Electronic.J , BiotechnologyPakistan Journal,6: 249-255.

Nahvi, I.; Moeini, H.2004. Isolation and identification of yeast strains with high beta- galactosidase activity from dairy products, Biotechnology (Pakistan Journal), 3(1):35-40.

Naidu,A.S,.2000. Optimization of The Industrial Process of lactic acid And its Derivatives from Diary Industry Wastes. Via Dodecaneso. 31-16-146 Genoa Italy.

Naif, H.; Hazem, S.; Al- Rabil,S; Al-Bassam, R. and Al- Doori, M.(1986): Application of non-supplemented whey based medium in the propagation of *Escherichiacoli, Saccharomyces cerevisiae* and *Candida utilis*.J. biol.Sci.Res.17(1):41-56.

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.

Neocleous M ,Barbano DM, Rudan MA.2002. " Impact of low concentration factor microfiltration on milk component recovery and Cheddar cheese yield "JDairy Sci. .85(10):2415-2424.

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.

Nigam, N.M. 2000. Cultivation of *Candidalangeronii* in sugarcane bagasse hemi cellulosehydrolysate for the production of single cell protein. *W.J.Microbiol.and biotechnol.* 16, 367-372.

Nigam.,J.N. 1998.,Single Cell Protein from Pineapple cannry effluent .World Journal of Microbiology and Biotechnology.14: 693-696.

Numanoglu, Y. and Sungur, S. 2004. β-galactosidase from*Kluyveromyces lactis* cell disruption and enzymeimmobilization using a cellulose-gelatin carrier system.*Process Biochemistry*, , vol. 39, no. 6, p.705-711.

Nsabimana, C., Jaing, B., & Kossah, R. 2005. Manufacturing, Properties and Shelf life of Labneh: a review. International Journal of Dairy technology, 58(3) : 129-137.

O'Leary, J; Hicks,C;Aylward, E and Langlois,B.1983. Cheese.general aspects. Major Cheese Groups (1):400-416.

Oshoma,C.E. and Ikenebomeh, M.J. 2005 . production of *Aspergillus niger* Bio mass from Rice Bram.pak.J. Mtrition.4(1):32-36.

Özer, A.H. (2004). Destructive Effects of Classical Viscosimeter on the Microstructure of Yoghurt Gel. Turk Journal Agriculture, 28, 19-23.

Özer, B.H. and Robinson, R.K. 1999. The behaviour of starter cultures & in concentrated yoghurt (Labneh) produced by different techniques. Lebensmittel. Wissenschaft and Technologie 32 : 391-395.

Padmaja,G.: and Balago pulan,C. 1990 . Evaluation of Single Cell Protien Enriched cassava waste as an enrgy source in broiler ration .F.A.O Corporate . Document.Repository. 9 : 143-155.

Papavasiliou, G.; Kourkoutas, Y.; Rapti, A.; Sipsas; V.; Soupioni, M. and Koutinas,A.A. 2008. Production of freeze-dried kefir cutture using whey. Inter. Dairy J., 18 (3):247-254.

Parrondo, J.; Garca, L.A. and Daz, M. 2009 . Nutrient balance and metabolic analysisin kluyvermyces marxianus fermentation with lactose. Added whey. Braz. J. chem.. Eng., 26, 3.

Phaff, H.J., Miller, M.W., Mark, E.M. 1996. The life of yeasts. Harvard university press,Cambridge, Massachrsetts. 186.

Porter, J.W.C .1975 . Milk and Dairy Food . Oxford University.Prees London "Whey and Lactose Processing" 12 ed . J.G.Zadow, Elsevier Applied Publisher, London .

Puda, p. and Vladisavijevic,G. 1996 . Processing of whey by means of Ultrafiltration and reverse osmosis ;l .Technological aspects.Review of Research Work at the Faculty of Agriculture, C.F.Dairy Sci Belgrade,41(l):187-196.

Puniya, A.K.; Singh,S.; Kumar,C.G. and Singh,K.(1995): Single cell protein: a promising dietary subtitute. Indian J. Exp. Biol. 33 (8):545.

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. andHashmi,A.S. 2006.Kinetics of batch Single Cell Protien production from rice polishing with*Candida utilis* in continuously aerated tank reactors Bioresource Technol ,97(15):1934-1941.

Rajoka,M.I. 2005.production of Single Cell Protien through fermention of perennial grass grown on saline lands with cellulomonas biazatea.Journal Microbial ,Biotechnol.21(3):207-211.

Ramadan Atra, Gyula Vatai. 2005.Investigation of ultraFiltration and nanofiltration for utilization of whey protein and lactose. Journal of Food Engineering, Issue 3, April,67 :325-332.

Ramadan,E. ; El-Sawy, M.; Gamal, R.;El-Hady, H. 1985. Growth parameters of yeast grown on agricultural residues using shake flasks as a batch culture. Annals of Agricul.Sci. Ain-Shams Uni. 30(5) :25-35.

Rao, D.V. and Salooja , M.K. 1990. Whey anutritive pollutant. Pollution Management in Food Industries , Mysore, India , Assoction of Food Sciece and Technologists, [C.F. Dairy Sci .Abstr., 54(2):848-456.

Rao, D.R., Alhajali, A. and Chawan, C.B .1987. Nutritional, ensory and Micobiological qualities of Labneh made from goat milk and cow milk, Journal of Food Science 52 : 1228-1230.

Rasmy, N,M. and El- Samragy, Y.A. 1986. 11th Int. Cong.State. Comput.Soc.Demoger.Res. Cairo.Egypt,pp.131-141.

Ravindar,R.;Rao,L.V. and Pogaku,R. 2003. Studies on *Aspergillus OryzaeMutants* for the prodcution of Single Cell Protien from Deoiled Rice Bran. Food Technology .Biotechnology.(3):234-242.

Rech, R.; Cassini, C.F.; Secchi, A. and Ayub, M.A.Z . 1999. Utilization of Protein-hydrolyzed cheese whey for production of b-galactosidase by *Kluyveromyces marxianus. Journal of Industrial Microbiology and Biotechology*,.23(2):91-93.

Reif, G.D; Shahni, K.M.; Vakil , J.R. & Crowe, L.K. 1976. Factors affecting B-complex vitamin content of cottage cheese. J.Dairy Sci 59:410-415.

Renner,E,& Abd El-Salam,M.H. 1991. Book of "Application of ultrafiltration in the Dairy industry " I st ed ., Elsevier Applied Science , Elsevier Science Publishers,LTD, Essex, England.2.231-243.

Renner,E. & Renz-Schauen, A,. 1986. Nahrwerttabellen Fur Milch and Milchprodukt. Verlag B. Renner,Griessen. "Whey and lactose processing" Elsevier Applied Science , Elsevier Science Publishers. England. 7: 131-148.

Robinson, R.K. and Tamime, A.Y. 1999. Microbiology of fermented milks, in dairy Bicrobiology – the Microbiology of milk Products, 2nd edn. (ed. R.K. Robinson), Elsevier Applied Science Publishers, London, 2: 291-343.

Robin S, Petrov K, Dintinger T, Kujumdzieva .A, Tellier .C and Dion.M .2003. Comparison of three microbial hosts for the expression of an active catalytic scFv. Mol Immunol 39: 729–738.

Robinson, R. K. 1986. Modern Dairy Technology. Vol. I. Advances in Milk Processing. Elsevier Appl. Sci., New York, NY.

Rodriguez J, Requena T, Fontecha J, Goudedranche H, Juarez M,.1999."Effect of different membrane separation technologies (Ultra Filtration and MicroFltrathon) on the texture and microstructure of low-fat cheeses "J Agric Food Chem Spain.47(2);558-565 .

Ritzka, A., Sosnitza, P., Ulber, R. and Sheper, T. 1997. Fermentation monitoring and process control. *Curr. Opin. Biotechnol.* 8 (2), 160-176.

Rubio-Texeira, M., Castrillo, J. I., Adam, A. C., Ugalde, U. O. and Polaina, J. 1998 . Highly efficient assimilation of lactose by a metabolically engineered strain of *Saccharomyces cerevisiae. Yeast* 14 (9), 827-843.

Rockarand .D,Austin,T.,Kaiser,R., and Blum,p.1999. Bacterial Growth State Distinguished by Single Cell Protien Profiling :Does Chlorination Kill Coliforms in Municipal Effluent؟Applied and Environmental Micro Biology sept,65:4181-4188.

Rodelas,B.,Salmeron V.,Martunez-Toledo M.V.,Gonzalez-LopezJ .1993. Production of vitamins by Azospirillum brasilense in chemically – defined Media plant soil 153:97-101.

Saliola. M, Mazzoni .C, Solimando. N, Crisa .A, Falcone. C, Jung. G & Fleer. R .1999. Use of the KlADH4 promoter for ethanoldependent production of recombinant human serum albumin in *Kluyveromyces lactis.* Appl Environ Microbiol 65: 53–60.

Salem, S.A. 1994. Some characteristics of Ricotta cheese made feom local cheeses' whey with buffaloe's milk, in comparision with traditional and ultrafiltration Ricotta. J . Agric . Sci., Mansoura Univ., 19 (2):737-750.

Schaafsma,G ;Derik,P.;Dekker,P.R.& Waard,H.de. 1988 . Nutritional aspects of yogurt . l. Microbial lactase activity and digestion of Lactose.Neth.Milk Dairy J.,42 :121-134.

Selim,M. ;Elshafei, A. and El- Diwany,A. 1991. Production of single cell protein from yeast strains grown in Egyptian vinasse. Biores. Tech. 36(2):157-160.

Shaker, R.R., Tashtoush, B. 2000. Modeling of Yogurt Viscosity During Coagulation Process. Egyptian Journal of Dairy Science 28 : 49-57.

Shaker RR., Obeidat, B. and Abu – Ishmais, M.A. 2002. Influence of Coagulum PH at draining on the quality and yield of concentrated yoghurt (Labneh). Egyptian Journal of Dairy Science 30 : 27-34.

Sim ,S. L., and Hang , Y.D. 1996. Production of carotenoids by *Rhodotorula rubra* from Sauerkraut Brine . Food Science Technology . 29 : 365 – 367 .

Shimp, L., A.1985. Process Cheese Principle ,Food Tec ,5:63-69.

Singh, B.D., Staron ,T.J,.1998. Production of proteins by mycological process. Biotechnology, Kalyani Publishers, New Delhi pp.. Br. Pat. 1604781: 498–510.

Singh ; A.;Abidi; A.B; Agrawal,A.K. ; and Darmewal, N.S., .1991. Single Cell Protein production by *Aspergillus. Niger* and its Evaluation .Zentralbe –Mikrobio L 146(3):181-184.

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.

Solomons,G.L. 1987 . Myco-protein: safety evaluation of a novel food. Archives of Toxicology Supplement, 11:191-193.

Sokolova, L.; Zhakovskaya,Z; Mikhaillova, N. and Yunov,K . 1985. Influence of , *Saccharomyces* yeast biomass on meat quality of broiler chickens. SNTLVInstitute, 83: 127-131.

Steinkraus, K. H. 1986. Microbial biomass protein grown on edible substrates: the indigenous fermented foods. In *Microbial Biomass Protein* (M. Moo-Youngand K. F. Gregory Eds.) Section I, p. 33. Elsevier Applied Science, London.33-52.

Stanbuty.P.E.,Whitaker,A.and Hall.S.J. 2000. Principle of fermeintior Technology .2th edn .Butter Worth Heinemann .Oxford. Stirland .p:342-358.

Sugai,M.Takakuwa,N.;Ohnishi,M;Arai,I;Urashima,T.; and Oda,Y. 2006. Selection of Lactic producing Glucosyleeramide for cheese whey.p:184-203.

Suwanno, S. 1996. SCP production from tuna condensate by Candida tropicalis TISTR 5136,Sonklanakarin-Journal-of-Science-and-Technology (Thailand). Warasan Songkhlanakharin. 18(1) :43-48 .

Swennen D, Paul MF, Vernis L, Beckerich JM, Fournier A and Gaillardin C .2002. Secretion of active anti-Ras single-chain Fv antibody by the yeasts Yarrowia lipolytica and *Kluyveromyces lactis*. Microbiology 148: 41–50.

Tahoun,M.;Merheb,Z; Salam,A and Youssef, A. 1987. Biomass and Lipids from lactoseor whey by *Trichosporon beigelii*.Biotechnol.Bioeng 29(3):358-360.

Tamime A.Y and Robinson RK.1999. Yoghurt: Science and Technology 2nd ed. (historical background pp1. UK. LLCi woodhead publishing Ltd and CRC Press . Chapter 1,P.P.:1, chapter 2 ,P.P.:21-31,chpter 5, P.P.: 326-335,chapter 6, P.P.:389-390,404 ,chapter 7,P.P.:437-443, chapter 9,P.P.:521-524

Tamime, A.Y. 1993. in Encyclopedia of Food Science, Food Technology and Nutrition, Vol. 7, PP. 57 – 152. Macrae, R. Robinson, R.K. and Sodler, M.J, eds. London : Academic Press.

Thomet, A.; Bachmann, H.P.; Schafroth, K.2005. Raclette cheese with whey proteins - innovative and economical, Agrarforschung (Switzerland). 11(7) p. 304-309

Uallah . T .,Ahmad,M.Q,Bilall, Zia-ur- Rahman 2, Muhammad.G.,and Rahman.S.U. 2005. The Effect of Severity of Mastitis on Protein and Fat contens of buffalo milk .Pakistan. Vet.J.25(1).p:321-346.

Uhlig,H. 1998. Industrial enzymez and their applications . Translated And updatet by Elfriede, M. and Bednar, L., John Wiley and Sons.,Inc.

Urban .PL, Jefimovs. K, Amantonico A, Fagerer SR, Schmid T, Madler S, Puigmarti-Luis J, Goedecke N, Zenobi R.2010. High-density micro-arrays for mass spectrometry. Lab Chip, 10:3206-3209.

USDA ,United states Department of Agricultral for the USA and won European countries, .2005. Foreigin Agriculture Service Dairy word.;USA.p:785-813.

van Ooyen, A.J.J., Dekker, P., Huang, M., Olsthoorn, M.M.A., Jacobs, D.I., Colussi P.A. and Taron, C.H. 2006.Heterologous protein production in the yeast *Kluyveromyces lactis*. *FEMS Yeast* Res 6: 381-392.

Van den Berg, J.A., Van der Laken, K.J., Van Ooyen, A.J.J., Renniers, A.C.H.M., Rietveld, K., Schaap, A., Brake, A.J., Bishop, R.J., Schultz, K., Richman, M. and Schuster, J.R. 1990. *Kluyveromyces lactis* as a host for heterologous gene expression: Expression and secretion of prochymosin. *Bio/Technology* 8: 135-139.

Varnam. A. H., and J. P. Sutherland. 1994. Milk and Milk Products.Technology. Chemistry and Microbiology. Chapman and Hall. London. 71–85.

Waard , H.de .and Stadhouders ,J. 1992. The metabolism of D(-) lactic acid Zuivelzicht,75:680-681. In"Whey and lactose processing 12" ed Elsevier Applied Science Publisher,London,pp 440-41.

Ware,S.A. 1977 . Single Cell Protien and other food Recovery Technology from waste, Municipial environmental research laboratory Office of R .and D.U.S.E.P.A. Cincimnati .Ohito 45268.346-353.

Ward, O. P. John Wiley and Sons P.N . 1998.Biomass production Production of food .plaent . In *Fermentation Biotechnology*. Chap. 6,p. 91-101., Chichester.

Weaver, C.M. and Plawecki, K.L. 1994. Dietary calcium**:** adequacy of a vegetarian diet. American Journal of Clinical Nutrition, 59(5) : 1238-1241.

Yacoub,-S.F.; Al-Kabi,-Sh.A.R. 1989. Effect of using single cell protein in fattening hamdani lambs on some physical and chemical characteristics of meat, (Iraq). mesopotamia journal of Agriculture, v. 21 (no. 1) p. 129-142.

Yamani, M. and Abu – Jaber, M.M, (1994) Yeast Flora of Labneh Produced in-bay Straining of cow milk set yoghurt. Journal of Dairy Science 77 : 3558-3564.

Yang, S.T. and Guo,M. 1990. Communication to the editor , Kinetics of Methanogenesis from Whey permeate in packed bed immobilized cell Bioreactor .Biotechnology and Bioengineering,36:427-439.

Yousef, A.E., and Carlstrom,C. 2003. Food Microbiology. By Jhon Wiley and Sons,Inc.p:454-467.

Zadow,J.G. 1992. Whey production and utilization in Oceania .Bull. Int Dairy Fed.,212:12-16.

Zayed ,G. 2000 .Evaluation of N2-Fixation Efficiency of Azotobacter in Alginate-encapsulated and free cell Systems .Egyptian J. Microbiol. 11:109-118.

Zhao, G., Zhang, W., Zhang, G. 2010. Production of single cell protein using waste capsicum powder produced during capsanthin extraction. Lett AppMicrobiol. 50. 187-91.