المجلة الدولية للتنمية – المجلد الثانى العدد الاول (2013): 114-107
International Journal of Development, Vol.2, No.(1) (2013): 107-114
ISSN: 2314-5552 e-ISSN: 2314-5560 (Online)
www. ijd.byethost13.com e-mail: ijd_fas@yahoo.com

استخدام مزارع مختلطة من خميرة *Kluyveromyces marxianus* وخميرة *Saccharomyces cerevisae*

لإنتاج البروتين أحادى الخلية من شرش الجبن

خالد على بلاعو[1] ، محمود محمد البوعزى[2]
1- قسم الأحياء- كلية العلوم غريان- جامعة الجبل الغربي.
Blau.khaled@yahoo.com
2 - كلية الطب الخمس- جامعة المرقب.

المستخلص

أجريت هذه الدراسة لإمكانية استخدم شرش الجبن (منزوع البروتين) المدعم وغير المدعم كوسط زراعي لإنتاج البروتين أحادى الخلية باستخدام تقنية المزرعة المختلطة المتكونة من السلالة *Kluyveromyces marxianus ATCC 8554* مع خميرة *Saccharomyces cerevisae*. فتبين باستخدام الشرش منزوع البروتين غير المدعم بأن محصول الكتلة الحيوية كان4.43 جم/لتر (0.1082 جم/جم)، البروتين الخام 35.0% وكفاءة استهلاك اللاكتوز كانت 99.87% بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر. وأما المزرعة المختلطة مع الشرش منزوع البروتين المدعم بـ 0.5% كبريتات الامونيوم، مستخلص الخميرة والبيتون و0.1% فوسفات البوتاسيوم وكبريتات الماغنيسيوم، أدت إلى زيادة فى محصول الكتلة الحيوية حيث كان محصول الكتلة الحيوية 5.73 جم/لتر (0.1312 جم/جم)، البروتين الخام 40.37% وكفاءة استهلاك اللاكتوز 99.80% بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر.

الكلمات المفتاحية: شرش الجبن – البروتين أحادى الخلية- *Saccharomyces cerevisae -Kluyveromyces marxianus*

المقدمة

اتجهت أنظار العالم إلى استخدام بعض الكائنات الحية الدقيقة كغذاء للإنسان والحيوان وذلك للزيادة المضطردة فى عدد سكان العالم وعدم توفر المواد الغذائية الجيدة، الحيوانية منها والنباتية، وتزداد الفجوة بين معدل الزيادة السكانية ومعدل زيادة الإنتاج الغذائي في الدول النامية بدرجة كبيرة، حيث ينخفض المحتوى البروتينى فى الوجبات الغذائية عن الحد الأدنى المسموح به للفرد والذى توصى به منظمة الصحة العالمية ومعاهد التغذية، مما يعرض سكان هذه الدول إلى الإصابة بكثير من أمراض سوء التغذية، خاصة فى الدول الفقيرة[(1)] (طه وجمال، 2005).

لذلك أصبح الإنسان يفكر ويبحث عن مصادر جديدة للبروتين لتكون بديلاً عن اللحوم، ومع تطور العلم والتقنية تنبه العلماء إلى أن الكائنات الحية الدقيقة يدخل فى تركيبها البروتين، وأن بعض خلاياها لديها القدرة على إنتاج بروتين خلوي بكميات كبيرة يمكن استخدامه كغذاء للإنسان أو علف للحيوان[(2)] (دلالى، 1994).

يُستعمل اصطلاح بروتين أحادى الخلية Single Cell Protein (SCP) للدلالة على الخلايا الجافة للأحياء الدقيقة (الكتلة الحيوية Biomass) كالطحالب، البكتيريا، البكتيريا الخيطية، الأعفان والخمائر التى يتم تنميتها فى أوساط زراعية معينة وعلى نطاق واسع[(3)] (Becker, 2003).

إن استعمال الفطريات وبالأخص الخمائر من أجل إنتاج البروتين أحادى الخلية يكون أكثر ملائمة بسبب سهولة تكاثرها وكبر حجم خلاياها، بالإضافة إلى أنها تحتوى على كميات أقل من الأحماض النووية مقارنة بالبكتيريا[(4)](Bekatorou *et al*., 2006). الشرش Whey هو ذلك الجزء المائي (أصفر مخضر) الذى ينتج من خلال ترسيب وإزالة كازين الحليب أثناء عملية تصنيع الجبن، والجزء الرئيسي من شرش الجبن هو اللاكتوز (Lactose) حيث يمثل 4-5% والمكونات الأخرى للشرش تشمل 93% ماء، 0.8-1% بروتين، 0.4-0.5% دهون، 0.5-0.7% رماد، 0.2% حمض لاكتيك[(5)] (Athanasiadis *et al*., 2001).

وهناك نوعان من الشرش يتم إنتاجهما هما الشرش الحامضى Acid whey (pH <5) والشرش الحلو Sweet whey (pH 6-7) تبعاً للطريقة المتبعة فى ترسيب الكازين Casein Precipitation[(6)] (مهنا، 2002). اتجاهات السوق الفعلية تتمثل فى زيادة تدريجية فى إنتاج الجبن وهذا يسبب إنتاج أكثر من 145× 10^6 طن من الشرش السائل كل عام مناظرة بـ 6 × 10^6 طن لاكتوز[(7)](Castillo, 1990). حيث أن 9 كيلوجرام شرش جبن تنتج من واحد كيلوجرام جبن[(8،9)] (Kilara and Patel, 1992، و Grba *et al*., 2002). وبالرغم من الإمكانيات العديدة لاستغلال شرش الجبن خلال الخمسين عاماً الماضية إلا أن حوالي نصف إنتاج شرش الجبن العالمي لايعامل ولكنه يهمل أو يتخلص منه. يمثل شرش الجبن مشكلة بيئية عامة بسبب الكمية الهائلة المنتجة ومحتواه العالي من المادة العضوية والتي تكون كالتالي:
Biological Oxygen Demand (BOD_5) = 30,000 -50,000 ملجم/ لتر و Chemical Oxygen Demand (COD) = 60,000 -80,000 ملجم/ لتر[(10)] (Ghaly and Singh, 2006).

تم استخدام المزرعة المختلطة للسلالات (M_2) *K. lactis* و(M_{11}) *K. fragilis* المعزولة من شرش الجبن مع خميرة *S. cerevisiae* زادت من محصول الكتلة الحيوية وخفضت الـBOD. فكان المحصول العالي للكتلة الحيوية وصل إلى 22.38 و19.58 جم/لتر على التوالي، وتم خفض الـBOD الأبتدائى من 30000 إلى 3450 ملجم /لتر[11] (Moeini *et al*., 2004).

وقد تركزت الأهداف الأساسية للدراسة على:

1- التعرف على المكونات الكيميائية الرئيسية ونسبها في شرش الجبن من مصنع الألبان بمدينة طرابلس/ ليبيا.

2- استخدام مزرعة مختلطة من الخمائر في إنتاج البروتين أحادى الخلية من شرش الجبن.

المواد وطرائق البحث

الكائنات الدقيقة المستخدمة في الدراسة:

استخدم فى هذه الدراسة سلالة الخميرة *Kluyveromyces marxianus* ATCC 8554 تم الحصول عليها من بنك الثروة الميكروبية Microbiogical Resources Center (MIRCEN). جامعة عين الشمس – جمهورية مصر العربية. وقد تم زراعة وتنشيط الخميرة على وسط آجار البطاطس والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) داخل أنابيب مائلة وتم حفظها عند درجة حرارة 4°م. وخميرة *Saccharomyces cerevisiae* والتي تم إعادة استنباتها من خميرة الخباز النشطة الفورية (Instant Active Dry Yeast) والتي أجريت عليها العديد من الاختبارات لتعريفها.

تجميع وتخزين الشرش:

لقد تم استخدام المخلفات الثانوية الناتجة من صناعة الجبن بمصانع تصنيع الجبن بمدينة طرابلس. وتم تجميع الشرش طازجاً في قنينات بلاستيكية واسعة معقمة، وتم حفظها في الثلاجة عند درجة حرارة 4°م لحين الحاجة لها.

تحضير شرش الجبن:

تم التخلص من بروتينات الشرش بالحموضة والحرارة، وذلك بخفض درجة تركيز أيون الهيدروجين (pH) إلى 4.5 وذلك باستخدام 1عيارى من حامض الهيدروكلوريك و 1عيارى من هيدروكسيد الصوديوم، وذلك باستخدام جهاز قياس الرقم الهيدروجيني نوع pH Meter WTW Inolab pH 730، والغليان عند درجة حرارة 100°م فى حمام مائى لمدة 15 دقيقة. ومن ثم تبريدها وجمعت البروتينات المترسبة بواسطة الترشيح (Filtration) باستخدام القطن، حتى نحصل على شرش منزوع البروتين Whey De-proteinized (Moeini *et al*., 2004). بعد ذلك تم توزيع الوسط فى دوارق مخروطية سعة 250 مل بمعدل 100 مل لكل دورق وضبط درجة تركيز أيون الهيدروجين(pH) للوسط، وسدت فوهاتها بالقطن وعقمت فى جهاز التعقيم (الأوتوكليف) عند درجة الحرارة 121°م لمدة 15 دقيقة.

تحضير اللقاح:

لقد تم تحضير اللقاح بتنمية الخميرة على وسط آجار البطاطس والدكستروز Potato Dextrose Agar (PDA) لمدة 2-3 أيام. ثم عمل معلق فى أنبوبة اختبار بها 5 مل من الماء المقطر المعقم[12] (Osman *et al*., 1983).

العمليات التخميرية:

لقد تم تلقيح الدوارق المخروطية سعة 250 مل والمحتوية على 100 مل من الوسط الغذائى المدعم أو الغير المدعم وبعد تعقيمها بمعلق خميرة ذو تركيز 2% لكل من السلالة *K. marxianus ATCC 8554*، وتركت دوارق بدون تلقيح كشاهد، وتم تحضين الدوارق فى حضان هزاز عند درجة الحرارة المثلى، وبسرعة دوران 200 دورة/الدقيقة والفترة الزمنية للتحضين لمدة (12 و24 ساعة). وبعد هذه الفترة من التحضين تم إضافة معلق الخميرة *Saccharomyces cerevisae* بتركيز 2% إلى الدوارق واستمرت عملية التخمير لمدة (24 و48 ساعة) على التوالي وتحت نفس الظروف السابقة وتم أجراء التجارب بثلاث مكررات لكل سلالة. وتم تدعيم الوسط بـ 0.5% مستخلص الخميرة (Yeast extract)، 0.1% K_2HPO_4، 0.1% كبريتات الماغنيسوم $MgSO_4$، 0.5% كبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$ و0.5% الببتون (Peptone).

تقدير الكتلة الحيوية:

تم فصل خلايا الخميرة عن الوسط الغذائي باستخدام جهاز الطرد المركزى نوع (Biofuge Primo R-Heraeus, Germany) عند سرعة دوران 5000 دورة/ الدقيقة لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة 10°م، وتم غسل المادة المرشحة بالماء المقطر وجففت الكتلة الحيوية المتحصل عليها فى فرن الهواء الساخن نوع (Heraeus – Baureihe 6000,

(Germany) عند درجة حرارة 60°م حتى ثبوت الوزن، ولقد تم وزن الكتلة الحيوية للخميرة باستخدام ميزان حساس نوع (Sartorius – CP 224S, Germany).

تقدير المحتوى البروتينى:

لقد تم تقدير النتروجين الكلى (Total nitrogen) بطريقة كلداهل (Kjeldahl Method) (A.O.A.C, 1995).

- يقدر محتوى البروتين الخام (Crude Protein Content) فى الخميرة الجافة (Dry Yeast) على أساس (النيتروجين الكلى × 6.25).
- يقدر محتوى البروتين الخام فى الشرش على أساس (النيتروجين الكلى × 6.38).

تقدير الدهن وتقدير الرطوبة والمواد الصلبة والرماد فى الشرش:

تم تقدير ها طبقاً لطريقة[13] (A.O.A.C, 1995).

تقدير سكر اللاكتوز:

تم تقدير اللاكتوز فى شرش الجبن، وفى الراشح أثناء أخذ عينات المتابعة الدورية لملاحظة التغيرات التى تطرأ على اللاكتوز أثناء العملية التخميرية. وقدر السكر حسب طريقة Phenol-Sulpheric Acid Method[14] (Dubois *et al.*, 1956).

تقدير درجة تركيز أيون الهيدروجين (pH) فى الراشح والوسط:

تم تقدير درجة تركيز أيون الهيدروجين فى الراشح والوسط وذلك باستخدام جهاز pH meter نوع pH Meter WTW Inolab pH 730.

تقدير الـ BOD :

تم تقدير الـ BOD باستخدام جهاز BOD- Sensor and Inductive Stirring System نوع AQUALYTK – GMBH, CO.

التحليل الأحصائى: Statistical Analysis.

تم استخدام اختبار التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design لتحليل نتائج العمليات التخميرية، وتم عزل المتوسطات باستخدام اختبار دنكن المتعدد الحدود Duncans's multiple range test (Clarke, 1980)[15].

النتائج والمناقشة

1- التركيب الكيميائي لشرش الجبن الخام المستخدم في الدراسة:

نتائج التحاليل الكيميائية لشرش الجبن كناتج ثانوي لصناعة الجبن موضحة في الجدول (1).

الجدول (1): التركيب الكيميائي لشرش الجبن الخام المستخدم في الدراسة.

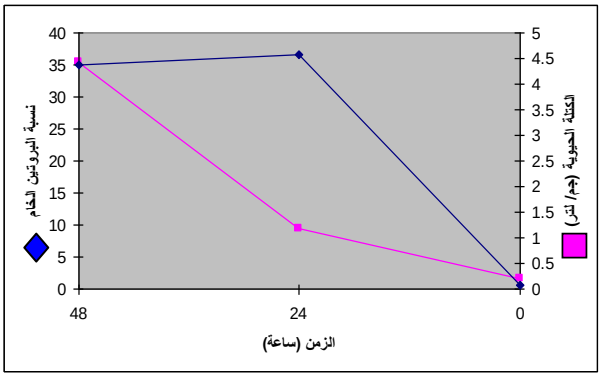
المكون	القيمة المقاسة	الوحدة
اللاكتوز	5 -4	%
البروتين	1.0 -0.9	%
الدهن	0.50	%
المواد الصلبة	0.70	%
الماء	93.00	%
الرماد	0.70	%
الحموضة	0.70	%
BOD	300 -200	ملجم/ لتر
Ph	6.7 -6.4	-

يتغير تركيب شرش الجبن اعتماداً على طريقة تصنيع الجبن. ويتكون من 4-5% لاكتوز والذي يعتبر المكون الرئيسي للشرش. وتشير الدلائل إن الشرش الحلو يحتوى على سكر اللاكتوز مطابق مما يحتويه الشرش الحلو التي تحصل عليها كل من[5،10،16] (Marwaha and Kennedy, 1988، Ghaly and Ben-Hassan, 1995 و Athanasiadis *et al.*, 2001).

2- إنتاج البروتين أحادى الخلية بواسطة المزرعة المختلطة من سلالة *K. marxianus ATCC 8554* وخميرة *Saccharomyces cerevisiae* باستخدام شرش الجبن منزوع البروتين غير المدعم.

ولقد تم إجراء هذه التجربة وذلك لمعرفة تأثير المزرعة المختلطة على إنتاج الكتلة الحيوية ونسبة البروتين الخام لكل من السلالة *K. marxianus ATCC 8554* مع خميرة *S. cerevisiae*. النشاط المتزايد لأنزيم β-galactosidase والذى يعمل على تراكم مستويات عالية من الجلوكوز والجلاكتوز، ويؤدى بالتالي إلى تثبيط الأنزيم بالتركيزات العالية من الجلوكوز والجلاكتوز. لذلك فإن استنزاف الجلوكوز والجلاكتوز الناتج تباعاً يعمل على استمرارية عملية تحلل اللاكتوز وبالتالي يؤدى إلى زيادة نسبة البروتين الخام.

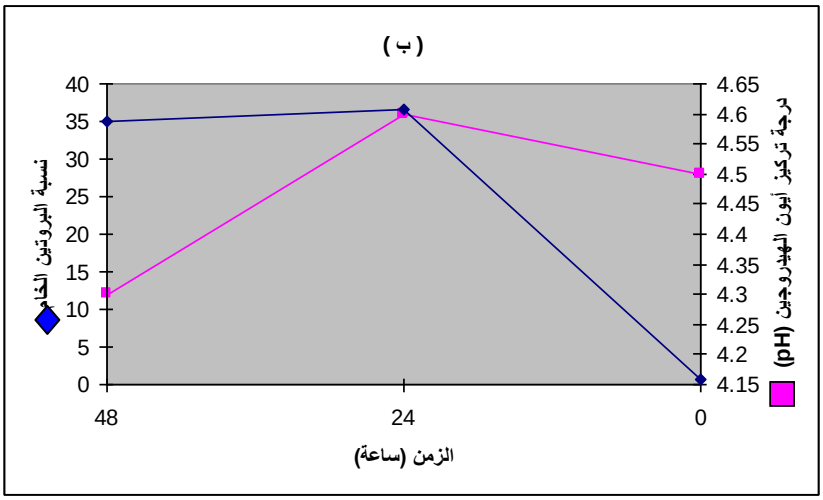
تساهم خميرة *S. cerevisiae* فى زيادة نسبة البروتين الخام المتكونة فى المزارع المختلطة وتعتمد قدرتها على استخدام النواتج الأيضية الناتجة عن السلالة المختبرة. ولبلوغ أعلى نسبة من البروتين فى المزارع المختلطة فإن ملائمة الظروف البيئية ووقت إضافة خميرة *S. cerevisiae* إلى المزارع المنفردة يعتبر أمر مهم. ولقد تم إضافة الخميرة للمزرعة المنفردة لسلالة الخميرة *K. marxianus* بعد انتهاء فترة الطور التمهيدي مباشرة للسلالة المختبرة وذلك بإضافة معلق الخميرة إلى بيئة التخمر بعد 12 و24 ساعة من بداية عملية التخمر وذلك لانطلاق كميات وفيرة من النواتج الأيضية فى بيئة التخمر. وأظهرت النتائج في (الشكل 1) بأن محصول الكتلة الحيوية يزداد تدريجياً حتى بلغ أعلى قيمة له وهى 4.43 جم/لتر بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر، وحيث كانت كمية الكتلة الحيوية على اللاكتوز 0.1082 (جم/جم).



الشكل (1): إنتاج البروتين أحادي الخلية من شرش الجبن منزوع البروتين غير المدعم بواسطة سلالة الخميرة *K. marxianus ATCC 8554* مع خميرة *S. cerevisiae*.

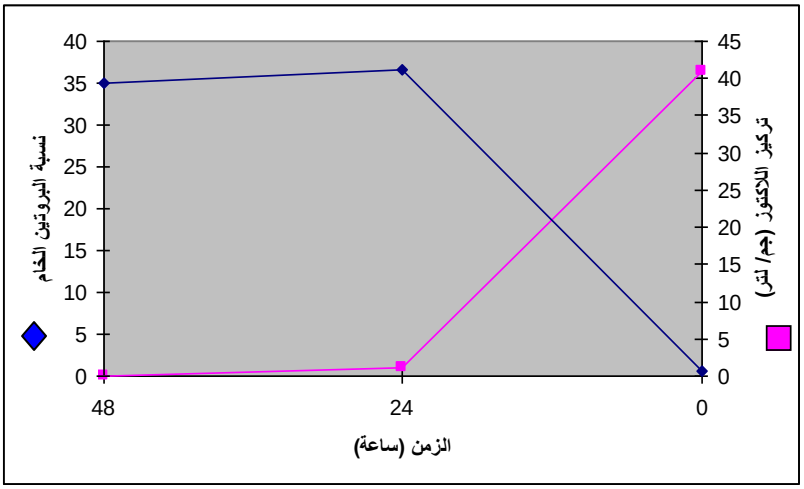
فلقد ذكر (Bekatorou *et al.*, 2006) [4] بأن خميرة *S. cerevisiae* لاتستطيع النمو على وسط اللاكتوز وذلك لأنــه ينقصها أنــزيم Lactose permase أوß-galactosidase. فى حين أنها تستهلك بعض المنتجات الخارج خلوية التى تنتج أثناء نمو سلالات الخمائر، وهذا ما أكده (Moeini *et al.*, 2004) [11] بأن المنتجات الأيضية كالايثانول، الاستر والألدهايد ...الخ المتكونة بواسطة سلالات *K. lactis* ، *K. marxianus* يمكن أيضها بواسطة خمائر أخرى مثل *S. cerecvisae*، وبالتالي تعمل على زيادة محاصيل الكتلة الحيوية باستخدام المزرعة المختلطة. فى حين أن نسبة البروتين الخام فى المزرعة المختلطة بلغت أعلى قيمة لها 36.57% بعد 24 ساعة من بداية عملية التخمر. ثم بدأت في الانخفاض حيث بلغت 35% بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر، ولقد تم أخذ عينات دورية بعد 12 و24 ساعة من بداية عملية التخمر قبل إضافة الخميرة *S. cerevisiae*، وجد بأن نسبة البروتين بعد 24 ساعة من التخمر قبل إضافة الخميرة 37%، ثم بدأت بالانخفاض بعد 48 ساعة من التخمر بعد إضافة خميرة *S. cerevisiae* حيث بلغت 35%. وأظهرت النتائج وجود فروق معنوية عالية لكل من الكتلة الحيوية والبروتين عند مستوى معنوية (P= 0.05).

ولوحظ بأن درجة تركيز أيون الهيدروجين لم تتغير قبل إضافة الخميرة *S. cerevisiae*، ثم بدأت فى الانخفاض وذلك نتيجة للنشاط الأيضى لكل من السلالة *K. marxianus ATCC 8554* وخميرة *S. cerevisiae* وإفراز الأحماض العضوية التى تعمل على خفض درجة تركيز ايون الهيدروجين (الشكل 2). وقد أشــار [17] (Litchfield,1979) إلى أن أفضل درجة تركيز أيون الهيدروجين لنمو الخميرة *S. cerevisae* هو مابين 4.5- 5.0.



الشكل (2): تغير درجة تركيز أيون الهيدروجين الناتجة عن عملية تخمر شرش الجبن منزوع البروتين غير المدعم بواسطة المزرعة المختلطة.

وكان معدل استهلاك اللاكتوز فى المزرعة المختلطة كان عالى حيث بلغ 97.32 و99.87% بعد 24 و48 ساعة على التوالي من بداية عملية التخمر، وكان تركيز اللاكتوز 0.053 جم/لتر بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر للمزرعة المختلطة (الشكل3)، فهذا يدل على استهلاك سريع للاكتوز فى الوسط وبالتالي قلل من إمكانية حدوث تثبيط الأنزيم بالناتج النهائي (الجلوكوز والجلاكتوز).



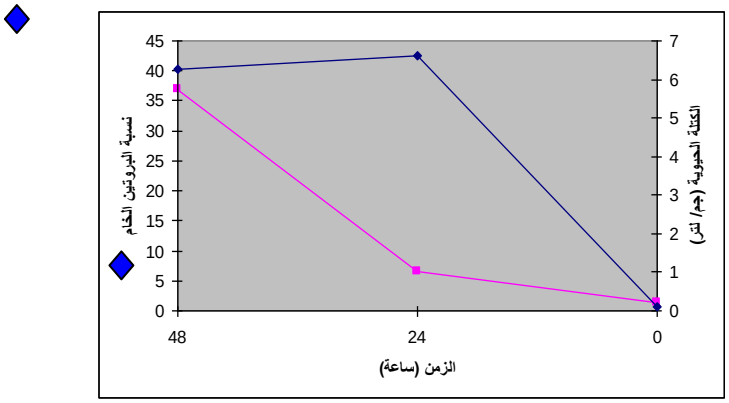
الشكل (3): استهلاك اللاكتوز بواسطة سلالة الخميرة في شرش الجبن منزوع البروتين غير المدعم.*K. marxianus ATCC 8554* مع خميرة *S. cerevisiae*.

وهذه النتائج تتفق مع ما ذكره (Moeini *et al.*, 2004) [11] بان المزرعة المختلطة لسلالات الخميرة *K. lactis* و*K. marxianus* مع خميرة *S. cerevisiae* تزيد من محصول الكتلة الحيوية.

3- إنتاج البروتين أحادى الخلية بواسطة المزرعة المختلطة من السلالة *K. marxianus ATCC 8554* وخميرة *Saccharomyces cerevisiae* باستخدام شرش الجبن منزوع البروتين المدعم.

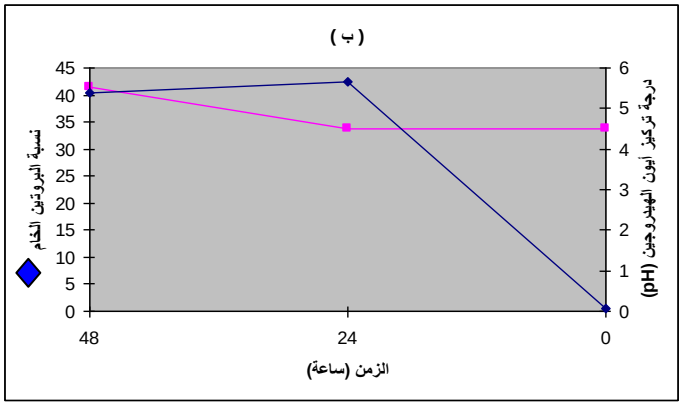
لقد تم تدعيم وسط الشرش ببعض المغذيات وهى: 0.5% من مستخلص الخميرة، بيتون و $(NH_4)_2 SO_4$ 0.1%، K_2HPO_4 و$MgSO_4$ 0.1%، وذلك لمعرفة تأثير المزرعة المختلطة على إنتاج الكتلة الحيوية والبروتين من وسط الشرش المدعم. وأظهرت النتائج فى (الشكل 4) بأن الكتلة الحيوية تتناسب طردياً مع الزمن حيث بلغت أعلى قيمة لها 5.73 جم/لتر بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر، وحيث كانت كمية الكتلة الحيوية على اللاكتوز 0.1312 (جم/جم) فى

المزرعة المختلطة. فى حين أن نسبة البروتين كانت 42.50% بعد 24 ساعة من بداية التخمر، ولوحظ بأن هناك انخفاض بسيط فى نسبة البروتين الخام بعد أن كانت 43.39% بعد 12 ساعة من بداية عملية التخمر قبل إضافة خميرة *S. cerevisiae*، ثم بدأت بالانخفاض حيث بلغت 40.37% بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر. وقد وجدت فروق معنوية عالية لكل من الكتلة الحيوية والبروتين عند مستوى معنوية (P= 0.05).



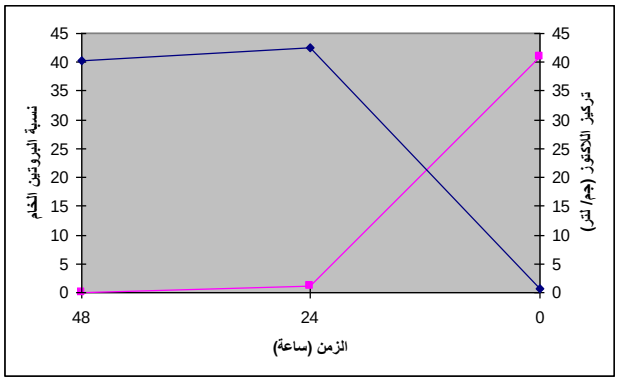
الشكل (4): إنتاج البروتين أحادي الخلية من شرش الجبن منزوع البروتين المدعم بواسطة سلالة الخميرة *K. marxianus ATCC 8554* مع خميرة *S. cerevisiae*.

ويتزامن مع ذلك زيادة فى درجة تركيز أيون الهيدروجين حيث بلغت 5.53 بعد أن كانت 4.5 (الشكل 5). وهذا الانخفاض فى نسبة البروتين ناتج عن التحلل الذاتي لخلايا الخميرة المتكونة.



الشكل (5): تغير درجة تركيز أيون الهيدروجين الناتجة عن عملية تخمر شرش الجبن منزوع البروتين المدعم بواسطة المزرعة المختلطة.

وبينما كان معدل استهلاك اللاكتوز عالي حيث بلغ 97.07 و99.80% بعد 24 و48 ساعة على التوالي من بداية عملية التخمر. وتركيز اللاكتوز يكون قد استنزف حيث بلغ 0.08 جم/لتر بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر (الشكل 6).



الشكل (6): استهلاك اللاكتوز بواسطة سلالة الخميرة في شرش الجبن منزوع البروتين المدعم

K. marxianus ATCC 8554 مع خميرة *S. cerevisiae*

يلاحظ تناقص فى تركيز كل من الجلوكوز والجلاكتوز فقد بلغ 0.00 و0.08 جم/لتر على التوالى بعد 48 ساعة من بداية عملية التخمر. فقد وجد (Cristiani-Urbina *et al*., 2000) [18] بأن خميرة *K. fragilis I.M.A.T 1972* استعملت لاكتوز شرش الجبن بشكل إنتقائى حيث أن مصدر الكربون استنزف فالخميرة تؤيض المركبات الأيضية الوسيطية (الايثانول، الاسترات، الألدهايدات والجليسرول ..... الخ) التى تتراكم فى الوسط وبالتالي فأنها تسلك مسار نمو ثنائى الطور Auxic growth pattern.

من خلال هذه النتائج يتضح أن المزرعة المختلطة لوسط الشرش المدعم أفضل من المزرعة المختلطة لوسط الشرش الغير مدعم في إنتاج البروتين أحادى الخلية.

التوصيات:

1- القيام بالمزيد من الدراسات على إنتاج البروتين أحادى الخلية بواسطة المزرعة المختلطة من الشرش الخام وذلك لقلتها أو تكاد تكون معدومة.

2- تدعيم شرش الجبن يمكن الاستفادة منه فى إمكانية زيادة إنتاج أنزيم اللاكتيز Lactase والذى يستخدم فى العديد من التطبيقات.

3- تحويل مخلفات مصانع الألبان أو غيرها من مخلفات مصانع الأغذية إلى كتلة حيوية عالية المحتوى البروتينى، تساهم بشكل كبير فى سد احتياجات السوق فى تدعيم أعلاف الحيوانات، إلى جانب التخلص من مصادر التلوث للبيئة.

4- الكتلة الحيوية الناتجة من عملية التخمر والمضاف لها البروتين الذى تم فصله من شرش الجبن بالحرارة والحموضة يؤدى إلى تكامل كل من بروتين الخميرة وبروتين الشرش لعمل غذاء بروتيني متزن يستخدم فى تغذية الأنسان والحيوان.

5- الأوساط الناتجة من التخمر بعد عملية فصل الكتلة الحيوية منها، يجب ألا ترمى وإنما يجب أن تجرى عليها بعض المعاملات التى تقلل من قيمة الـ BOD العالية، وهذا بدوره يؤدى إلى تقليل مشاكل التلوث.

6- البروتين أحادى الخلية الناتج والمستعمل كعلف حيوانى أو كمدعم لابد أن تحدد له بعض المواصفات ومنها القيمة الغذائية والأحماض النووية وتحديد مكوناته مقارنة بمصادر البروتين التقليدية وتقارن هذه القيم مع قيم منظمة الزراعة والأغذية العالمية.

المراجع

1 - طه، أ.م.ر؛ جمال، ر.ج.(2005). ميكروبيولوجيا التخمـرات. الطبعة الأولى. دار الفكر العربي للنشر والتوزيع. القاهرة. مصر.ص:104-117.

2 - دلالى، ب.ك.(1994). بروتينات الخلية الأحادية. مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي. العدد الرابع.ص:12-15.

3- Beker,P.M.(2003). Single cell proteins in diets for weanling pigs. Animal Science Group, Nutrition & Food, USA, p:1-36.

4- Bekatorou, A., Psarianos, C. and Koutinas, A. A. (2006). Production of food grade yeast. Food Technol. Biotechnol, 44(3): 407-415.

5- Athanasiadis., Becatorou, A., Lindner, C., Kourkoutas, T., Iconomopoulou, M., Boskou, D. and Blekas, G.(2001).Whey liquid waste of dairy industry as raw material for fermentation by *Kffir granules*.7th International Conference on Environmental Science and Technology. Ermoupolis, Syros Island, Greece. p:14-20.

6 - مهنا، ن.م .(2002). التصنيع والخواص الوظيفية لبروتينات اللبن. الطبعة الأولى. منشأة المعارف. مصر.ص:79 - 111.

7- Castillo, F.J.(1990). Lactose metabolism by yeasts. In yeast biotechnology and biocatalysis.(Verachtert, H. and Demost, R Eds). p: 297-320. Marcel Dekker, New York.

8- Grba, S., Stehlik-Tomas, V., Stanzer,D., Vahcic, N. and Skrlin, A.(2002). Selection of yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and biomass production on whey.Chem.Biochem.Eng, 16(1): 13-16.

9- Kilara, A. and Patel, M.T.(1992). Whey and lactose fermentation. In whey and lactose processing.(Zadow, J.G Eds). p: 409-448. Elsevier Applid Science, London.

10- Ghaly, A.E. and Ben-Hassan, R.M.(1995). Kinetics of batch production of single cell protein from cheese whey. Appl. Biochem. Biotechnol, 50(1):79-94.

11- Moeini, H., Nahvi, I., and Tavassoli, M. (2004). Improvement of SCP production and BOD removal of whey with mixed yeast culture. Electronic. J. Biotechnol, 7(3): 249-255.
12- Osman, M.A., Bezberadov, A.H. and Voina, L.E.(1983). Production of single cell protein (SCP) from Egyptian cane sugar molasses. II. Effect of some environmental and nutritional conditions on growth and protein content of *Candida humicola 6*. Egypt.J.Microbiol, 18(1-2): 79-85.
13- A.O.A.C .(1995). Official Methods of Ananlysis.16th ed, Association of Official Analytical Chemists, AOAC, International Publishers, virgina, USA.
14- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F.(1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal.Chem, 8: 350-366.
15- Clarke, G.M.(1980). Statistics and Experimental Design. 2nd ed. Edward.Arnold, LTD.London.p: 101-128.
16- Marwaha, S.S. and Kennedy, J.f.(1988). Review: whey pollution problem and potential utilization. Int.J.Food Sci.Technol, 23: 323-336.
17- Litchfield, J.H.(1979). Production of single cell potein for use in food. In Microbial Technology.2nd ed.(Peppler, H.J. and Perlman, D Eds). Vol.1, p: 93-155. Academic Press,Inc.New York.USA.
18- Cristiani-Urbina, E., Netzahuatl-Munoz, A.R., Mahriqnez-Rojas, F.J., Juarez-Ramirez, C., Ruiz-Ordaz,N. and Galindez-Mayer, J. (2000). Batch and fed-batch cultures for the treatment of whey with mixed yeast cultures. Process Biochemistry, 35(7):649-657.

Use of mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus* and *Saccharomyces cerevisae* for production of single-celled protein from cheese whey.

Khaled Ali Balao[1] and Mahmoud Mohamed Al-Boazi[2]
1- Biology Department, Gharyan College of Science, Western Mountain University.
Blau.khaled@yahoo.com
2- Al-Khums College of Medicine - University of Al-Marqab.

ABSTRACT

This study was conducted for the possibility of using fortified and non-fortified (deproteinized) cheese whey as a culture medium for the production of single-cell protein using mixed culture technique consisting of *Kluyveromyces marxianus* ATCC 8554 strain with *Saccharomyces cerevisae*. It was found by using deproteinized whey that the biomass yield was 4.43 g/l (0.1082 g/g), the crude protein was 35.0% and the lactose consumption efficiency was 99.87% after 48 hours from the start of the fermentation process. As for the mixed culture with deproteinized whey fortified with 0.5% ammonium sulfate, yeast extract, peptone, 0.1% potassium phosphate and magnesium sulfate, it led to an increase in the biomass yield where the biomass yield was 5.73 g/l (0.1312 g/g), protein Raw 40.37% and lactose consumption efficiency 99.80% after 48 hours from the start of the fermentation process.