

تحديد شروط التشغيل المثلى لتجزئة بروتينات المصل بأغشية من السراميك

أنطون طيفور⁽¹⁾

الملخص

تظهر هذه الدراسة كيفية تأثر أداء أغشية الترشيح فوق العالي (أغشية من السيراميك) بظروف التشغيل (الغشاء، رقم الـpH، فرق الضغط للغشاء، نوع المصل، التركيز)، فمعدل تدفق الرشاحة يتأثر برقم الـpH المصل وفرق الضغط للغشاء، حيث يزداد هذا التدفق مع زيادة الضغط المطبق حتى الوصول إلى معدل تدفق ثابت وكذلك يزداد هذا المعدل بزيادة رقم الـpH المصل. ويحدث أفضل فصل للبروتينات عندما يكون معدل تدفق الرشاحة منخفضاً (ضغط منخفض مطبق، ضغط خلفي للرشاحة) ولا تتبدل نقاوة بروتين الألفالاكتالبومين في الرشاحة مع مرور زمن الترشيح فوق العالي. كما يتناقص معدل تدفق الرشاحة وعبور البروتينات مع مرور الزمن وزيادة تركيز الجزء المركز بفعل انسداد أغشية الترشيح فوق العالي.

الكلمات المفتاحية: الترشيح فوق العالي، بروتينات المصل.

⁽¹⁾ أستاذ مساعد، قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق ص.ب 30621 سورية.

Optimal Operating Conditions for Fractionation of Whey Proteins by Ceramic Membranes

A. Tayfour⁽¹⁾

ABSTRACT

The present study shows how the UF membrane (Zirconia) performance depends on the operating conditions: membrane, pH, transmembrane pressure, type of whey and concentration. Permeate flux is influenced by whey pH and transmembrane pressure. As pressure increases, the flux increases and reaches a limiting flux; increasing whey pH also increases flux. Better separation occurred at low fluxes (low applied pressure-back pressure). The purity of α -la in permeate does not change versus the filtration time. Flux and transmission of proteins decreased under the effect of membrane fouling.

Key words: Ultrafiltration, Membrane, Whey Proteins.

⁽¹⁾ Associate Professor, Food Science Department, Agriculture Faculty, Damascus University, P.O.Box 30621, Syria.

المقدمة

ينتج عن صناعة الأجبان والكازئين كميات كبيرة من المصل إذ تشكل قرابة 80% من كميات الحليب المستخدم في هذه الصناعة ويحتوي هذا المصل على قرابة 50% من المواد الصلبة العضوية للحليب الخام، ومن بين هذه المواد العضوية المهمة البروتينات التي تشكل قرابة 20% من كامل كمية البروتينات الموجودة في الحليب (0.9%).

اقترحت عدة طرائق لفصل بروتينات المصل مثل البيبتالكتوغلوبلين والألفالكتالسيوم والتي تشكل بدورها قرابة 55-66% و 20-25% على الترتيب، أو على الأقل إنتاج مواد غنية بالألفالكتالسيوم مقارنة بالبيبتالكتوغلوبلين نظراً للفوائد الكبيرة لهذه المواد واستعمالاتها في الصناعات الغذائية والصيدلانية (حليب الأطفال حديثي الولادة، فاعلية مهدئة ومنومة، فاعلية مضادة للسرطان لببتيدات الألفالكتالسيوم) (1997) Maubois and Olivier (2003) IDF-Bulletin 384.

والألفالكتالسيوم هو البروتين الوحيد الذي يبقى راتقاً بعد الغليان ولذلك يمكن استعماله في مشروبات الرياضيين والمشروبات الأخرى دون أن تصبح عكرة.

حتى الآن تعتمد عمليات فصل بروتينات المصل على معاملات قاسية (حرارة+حموضة) فضلاً عن الفصل بتقانات الأغشية. تسمح تقانات الأغشية بتجنب التأثيرات الكيميائية والحرارية في البروتينات مما يبقى عليها بحالتها الطبيعية ومن ثم المحافظة على فوائدها الطبية. وتعزى محدودية نجاح استعمال الترشيح فوق العالي في تجزئة هذه البروتينات والحصول عليها منفردة إلى عدة ظواهر وبخاصة عدم تماثل أقطار مسامات الغشاء الواحد الذي يقلل بصورة معنوية من قدرة الفصل والتراكم القطبية العالية للبروتينات على سطح الغشاء مما يخفض من اصطفاية الغشاء وانسداده وكذلك فالتفاعلات المتبادلة بين البروتينات تتدخل في عملية الفصل هذه، لذلك فإن لصفات سطح الأغشية دوراً حرجاً لتطوير تطبيقات نوعية جديدة لتجزئة بروتينات المصل حيث تساعد على تركيز هذه البروتينات والحصول على مركز يحتوي حتى على 90% من البروتين بصورته الطبيعية.

إن استخدام أغشية الزيركونيا Zirconia (أغشية السيراميك) يقلل من ادمصاص البروتين على الغشاء ومن ثم يؤدي إلى تحسين أداء الغشاء في فصل بروتينات المصل بالترشيح فوق العالي.

وجد Hurwitz و Branthly (2000) أن معدل انتقال البروتين عبر أغشية الترشيح فوق العالي يرتبط بقوة مع قوة القص ومعدل تدفق الرشاحة. ويظهر أن هذا الارتباط متعلق بحجم البروتين وشكله. كذلك فإن تجزئة خليط من البروتينات بأغشية الترشيح فوق العالي

ليس بالأمر السهل نظراً لتقارب قياس جزيئات البروتينات من بعضها بعضاً فضلاً عن تأثير أداء الأغشية نتيجة ادمصاص البروتينات على سطحها., Lucas *et al.* (1988) .

استعمل Van Ries وآخرون (1997) تياراً موازياً من الرشاحة من الجهة الأخرى للغشاء للمحافظة على معدل ضغط ثابت من جهتي الغشاء، ومن ثم اصطفاية أفضل لانتقال البروتينات عبر هذه الأغشية. واقترح Zydney (1998) الاستفادة من تأثير قيم الـ pH وتركيز ملح الطعام لتجزئة البروتينات.

يتم حالياً استخدام تقانة الكروماتوغرافيا بالتبادل الأيوني صناعياً لفصل اللاكتوفيرين واللاكتوبيروكسيداز وغلوبيولينات المناعة (Donnelly and Mehra (1990).

حصل Maubois وزملاؤه (2001) بعد معاملة حرارية للمصل (55 م مدة 30 دقيقة) على راسب من الألفالاكتالبومين+ألبومين المصل+غلوبيولينات المناعة ومن الجزء الرائق بعد الترشيح فوق العالي على مركز من بيتاللاكتوغلوبلين.

وتبين دراسة Mehra و Kelly (2003) أن عملية فصل بروتينات المصل ولاسيما بيتاللاكتوغلوبلين وألفالاكتالبومين والحصول عليها منفردة بتقانة الترشيح فوق العالي يطرح مشكلة نظراً لتقارب أوزانها الجزيئية (18362 و 14147 دالتون على الترتيب) وكذلك تماثل نقطة جهدها الكهربائي (pHi = 5.1 و 4.5 على الترتيب).

عمل Muller وزملاؤه (1999) على دراسة عدة تصاميم لعملية فصل الألفالاكتالبومين من مصل الكازئين الحامضي (التركيز المستمر - التركيز المنقطع - التركيز مع الغسيل بالماء) بغشاء نقطة قطعه الجزيئية 300000 دالتون وبرقم حموضة وحيد pH=7.0.

كما قام عطرة عام (2000) باستخدام عدة أنواع من الأغشية في صناعة الأجبان واضعاً علاقات رياضية جديدة تعبر عن معدل التدفق عبر الغشاء وتغير تراكيز التغذية والراشح.

الهدف من البحث:

يهدف هذا البحث إلى تحديد ظروف التشغيل المثلى لعملية الترشيح فوق العالي بأغشية جديدة مصنوعة من السيراميك وإمكانية تجزئة بروتينات المصل وبخاصة الحصول على راشح غني بالألفالاكتالبومين.

مواد البحث وطرائق

عمليات الأغشية

الترشيح الدقيق: بعد نزع الدهن من مصل الجبن وتعديل رقم حموضته إلى pH=5.0 يمرر عبر جهاز ترشيح دقيق (Tetra Pak Filtration System, Aarhus, Denmark) مزود بأغشية من السيراميك قطر مساماتها 0.1 ميكرونًا ومساحة سطحها

13.3م² مصنوعة من طبقة من أكسيد الزركونيوم وجزء داعم من الألومينا (SCT-MEMBRALOXTM, Bazet, France). تجرى عملية الترشيح الدقيق في درجة حرارة مقدارها 12 م وبضغط متماثل عبر الغشاء (UTMP) قدره 0.3 بار.

ينظف الغشاء بالغسيل بالماء المنزوع الشوارد وبعدئذ بمنظف قلوي (P₃-Ultrasil25, Henkel, Germany) بتركيز قدره 0.5% مدة 20 دقيقة في الدرجة 85 م ثم الغسيل بالماء مدة 5 دقائق في الدرجة 50 م وبعدئذ بمنظف حامضي (Nitric acid) بتركيز 0.3% مدة 10 دقائق في الدرجة 50 م. ويمكن إبقاء المحلول الحامضي ضمن الجهاز ويغسل بالماء قبل إعادة استعماله ثانية.

الترشيح فوق العالي: استعملت أغشية من السيراميك (TAMI Industries, Nyons, France) لها نقاط قطع جزيئية متباينة (150.000 و 300.000 دالتون) ومساحة سطحها 0.36م² مصنوعة من طبقة من أكسيد الزركونيوم وجزء داعم من الألومينا. ووضعت هذه الأغشية ضمن جهاز ترشيح فوق عالي (Alfa-Laval, Sweden) مزود بمضخة إيجابية يمكن التحكم بسرعتها بحيث تعطي ضغطاً داخلياً يتراوح بين 2.3-2.5 باراً، وكذلك ضغطاً خلفياً للرشاحة يتراوح بين 0.5-1.0 باراً.

تنظف الأغشية بماءات الصوديوم بتركيز 0.5% (P₃-Ultrasil25) في الدرجة 50 م مدة 15 دقيقة ثم الغسيل بالماء في الدرجة 50 م مدة 15 دقيقة وبعدئذ بمنظف حامضي عضوي (P₃-Ultrasil73) بتركيز 0.5% في الدرجة 40 م مدة 15 دقيقة ثم الغسيل بالماء في الدرجة 25 م مدة 15 دقيقة.

التغذية بمصل الجبن: تم الحصول على مصل الجبن الحلو pH=6.6 من إحدى أكبر شركات الألبان في أيرلندا (Dairy gold, Mitchelstown)، يعامل هذا المصل بالطرد المركزي لتنتقيته ثم يبستر في الدرجة 72 م مدة 15 ثانية.

التغذية ببروتينات المصل المعزولة W.P.I.: استخدمت بروتينات المصل المعزولة (BIPRO, Davisco, U.S.A.) للتغذية بصورة سائلة بتركيز يتراوح بين 7-14 غراماً/ لتر وقيم pH مختلفة بين 5.0-7.0 مع إضافة ملح الطعام بتركيز 0.20 مليمول. ينفذ الترشيح فوق العالي في الدرجة 25 م وبضغط داخلي قدره 2 بار.

ط راء ق التحلي

تم تحديد كمية البروتينات الكلية بطريقة ميكرو-كلداهل مع استعمال ثابت تحويل=6.38 (AOAC, 1990).

تحليل بروتينات المصل بالكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس RP-HPLC: استعملت طريقة Elgar *et al.* (2000) وعمود Source 2.5 ml (Amarsham-Bioscience, Uppsala, Sweden) الموصول لجهاز الكروماتوغرافيا

(Waters 2690)، واستخدمت بروتينات تجارية (Sigma) من البومين المصل، الفالكتالبومين وبيتا لاكتوغلوبلين لتحديد كمية هذه البروتينات في العينات المختبرة.

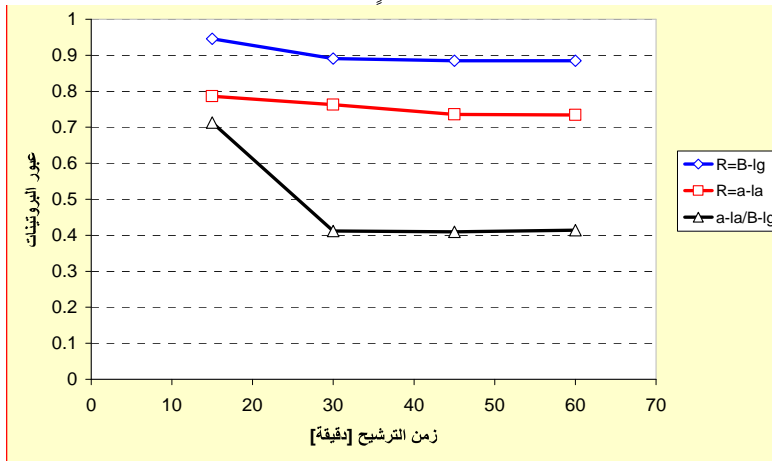
تحديد النقاوة بهلام البولي أكريل أميد -SDS: تم التأكد من نقاوة بروتينات المصل باستعمال الرحلان الكهربائي على هلام من البولي أكريل أميد -SDS ضمن جهاز (Bio-Rad Laboratoris) بحسب طريقة (Laemmli,1970)، تنشر عينات البروتينات في محلول واقٍ يحتوي على الـ SDS والميركبتوأيثانول ثم تسخن إلى الدرجة 95 م مدة 4 دقائق.

النتائج والمناقشة

أولاً - الترشيح فوق العالي من دون ضغط خلفي للرشاحة (غشاء نقطة قطعه الجزيئية 300.000 دالتون):

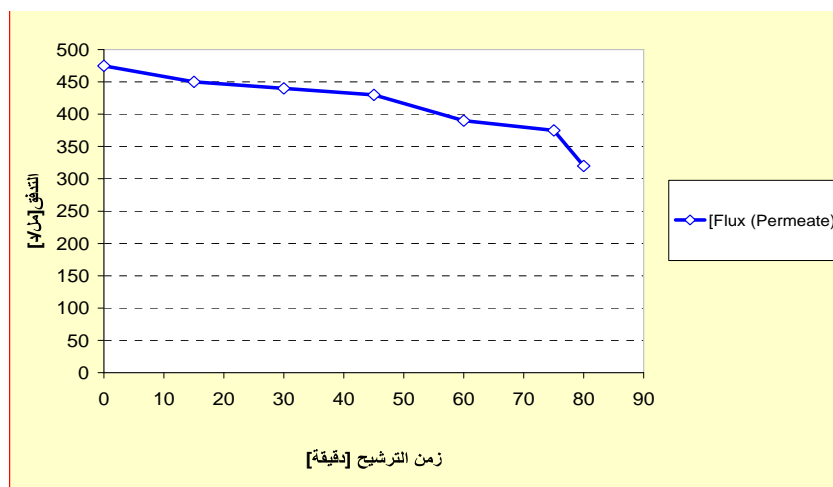
يظهر الشكل (1) أثر عدم المحافظة على ضغط خلفي للرشاحة في عبور البروتينات في أثناء الترشيح فوق العالي لرشاحة الترشيح الدقيق (MF) لمصل الجبن (pH=7.0) بغشاء نقطة قطعه الجزيئية 300.000 دالتون، حيث تنخفض نسبة الألفالكتالبومين إلى البيتا لاكتوغلوبلين في الرشاحة من 0.7 إلى 0.4 بعد فترة زمنية مقدارها 30 دقيقة وبعدئذ تبقى ثابتة للفترة الزمنية المتبقية أي 60 دقيقة.

ويمكننا استنتاج أن عبور البروتينات ولاسيما الألفالكتالبومين (البروتين الهدف) يكون أفضل في البداية حتى 30 دقيقة ثم يستقر بعدئذ على معدل ثابت في الفترة الزمنية الباقية.



الشكل (1) تأثير زمن الترشيح فوق العالي لرشاحة الترشيح الدقيق لمصل الجبن (pH=7.0) في عبور البروتينات (غشاء نقطة قطعه الجزيئية 300.000 دالتون ومن دون ضغط خلفي للرشاحة).

وكما هو متوقع يكون معدل تدفق الرشاحة كبيراً في البداية ثم ينخفض بسرعة مع مرور الزمن ليصل إلى 60% مما يشير إلى انسداد لمسامات الغشاء بالبروتينات (شكل 2).

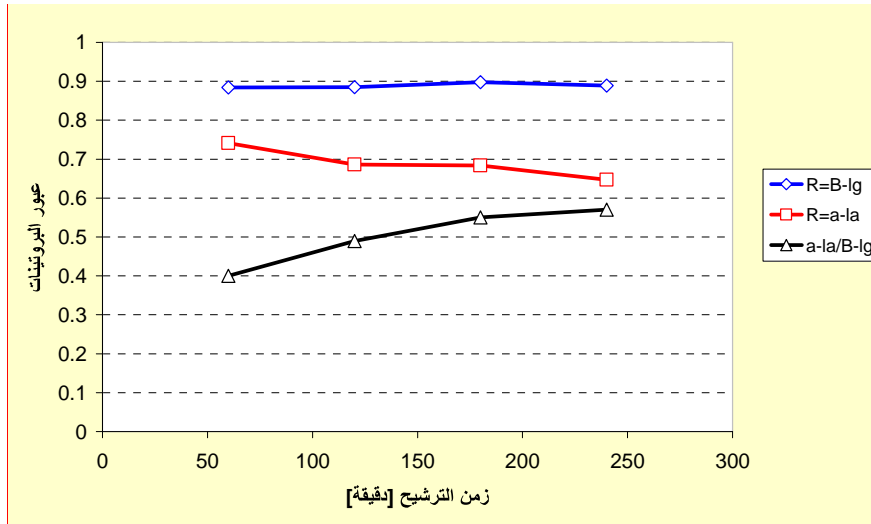


الشكل (2) تأثير زمن الترشيح فوق العالي لرشاحة الترشيح الدقيق لمصل الجبن (7.0=pH) في معدل تدفق الرشاحة (غشاء نقطة قطعه الجزيئية 300.000 دالتون ومن دون ضغط خلفي للرشاحة).

ثانياً - الترشيح فوق العالي مع ضغط خلفي للرشاحة (غشاء نقطة قطعه الجزيئية 150.000 دالتون):

يظهر الشكل (3) أثر استعمال ضغط خلفي للرشاحة يتراوح بين 0.6-1.0 باراً في عبور البروتينات في أثناء الترشيح فوق العالي لرشاحة الترشيح الدقيق (MF) لمصل الجبن (7.0=pH) بغشاء نقطة قطعه الجزيئية 150.000 دالتون، حيث ترتفع نسبة الألفالاكتالبومين إلى البييتالاكتوغلوبلين تدريجياً من 0.4 إلى 0.57 عند الوصول إلى معامل تركيز مقداره 4 مرات في الحجم (VCR) بفترة زمنية مقدارها 4 ساعات، ويلاحظ انخفاض كمية البييتالاكتوغلوبلين في الرشاحة إلى 0.43 غراماً/لتر عند البداية وبعدئذ ارتفاعها ثانية بالقرب من نهاية العملية.

أما بالنسبة إلى الألفالاكتالبومين فتبقى نسبته في الرشاحة ثابتة تقريباً بعد ارتفاعها من 0.2 إلى 0.25 غراماً/لتر عند البداية.



الشكل (3) تأثير زمن الترشيح فوق العالي لرشاحة الترشيح الدقيق لمصل الجبن (pH=5.28) في عبور البروتينات (غشاء نقطة قطعه الجزئية 150.000 دالتون مع ضغط خلفي للرشاحة).

وهنا أيضاً يحدث انخفاض في معدل تدفق الرشاحة مع مرور الزمن حيث يكون كبيراً بعد مرور 30 دقيقة ثم يتناقص تدريجياً حتى نهاية العملية.

وبمقارنة النتائج الواردة في الشكلين (1) و(3) يتبين لنا أن استعمال ضغط خلفي للرشاحة يتراوح بين 0.6-1.0 باراً يؤدي إلى زيادة نسبة عبور (انتقال) الألفالاكتالبومين مقارنة مع البييتالاكتوغلوبلين (البروتين الملوث) أي التقليل من تلوث الألفالاكتالبومين (البروتين الهدف) في الرشاحة الناتجة عن عملية الترشيح فوق العالي.

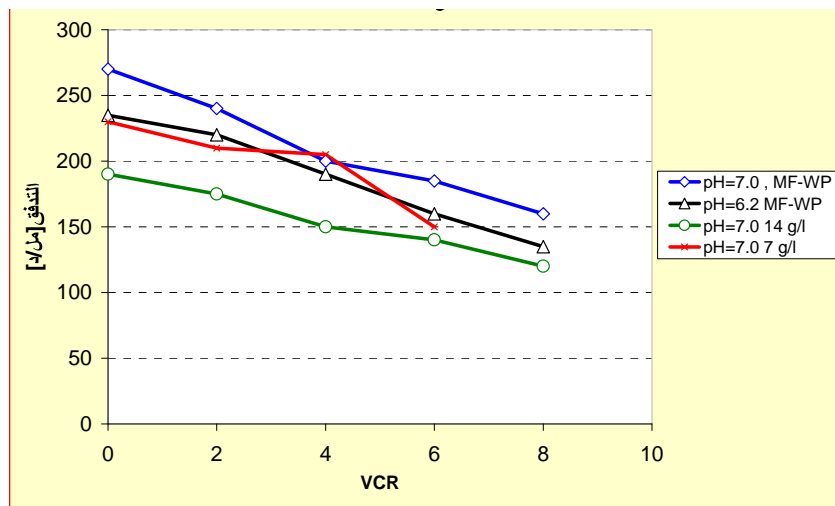
ثالثاً - تأثير قيم الـ pH ونوع المصل في معدل تدفق الرشاحة خلال عملية التركيز بغشاء نقطة قطعه الجزئية 150.000 دالتون:

نستنتج من دراسة الشكل (4) أن أداء أغشية الترشيح فوق العالي يكون مفضلاً عند القيم المرتفعة من الـ pH عنه عند القيم المنخفضة (pH=7.0<6.2<5.28)، كما تسجل ملاحظة انسداد مسامات الغشاء مع مرور الزمن مؤدية إلى انخفاض معدل تدفق الرشاحة إلى قرابة 60%، وكنتيجة عملية يتطلب تركيز المصل بمقدار 4 مرات في الحجم قرابة

4 ساعات عند قيمة $pH=5.28$ في حين عندما تكون قيمة الـ $pH=7.0$ نحصل على معدل تركيز مقداره 8 مرات بالفترة الزمنية نفسها.

وعند مقارنة نتائج الترشيح فوق العالي لرشاحة الترشيح الدقيق (MF) لمصل الجبن عند قيمة $pH=5.28$ مع تلك الخاصة ببروتينات المصل المعزولة (WPI) بتركيز قدره 7.0 غرام/لتر وقيمة $pH=7.0$ وجدنا أنها متماثلة من حيث معدل تدفق الرشاحة.

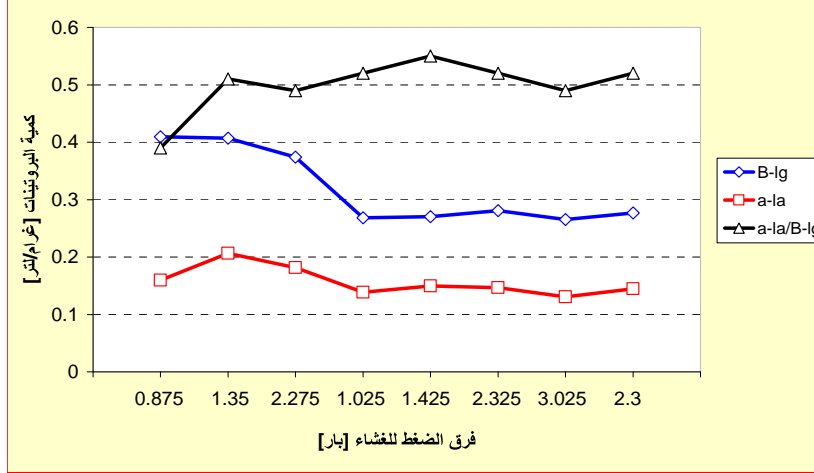
وفي الشكل (4) أيضاً أردنا تبيان أثر زيادة تركيز البروتينات في محلول التغذية في معدل تدفق المصل عند قيمة $pH=7.0$ ، حيث ينخفض معدل تدفق الرشاحة عند زيادة تركيز بروتينات المصل المعزولة إلى الضعف من 7.0 إلى 14.0 غراماً/لتر وذلك نتيجة زيادة اللزوجة والتفاعلات المتبادلة بين جزيئات هذه البروتينات.



الشكل (4) تأثير قيم الـ pH ونوع المصل في معدل تدفق الرشاحة عند التركيز بغشاء نقطة قطعه الجزيئية 150.000 دالتون.

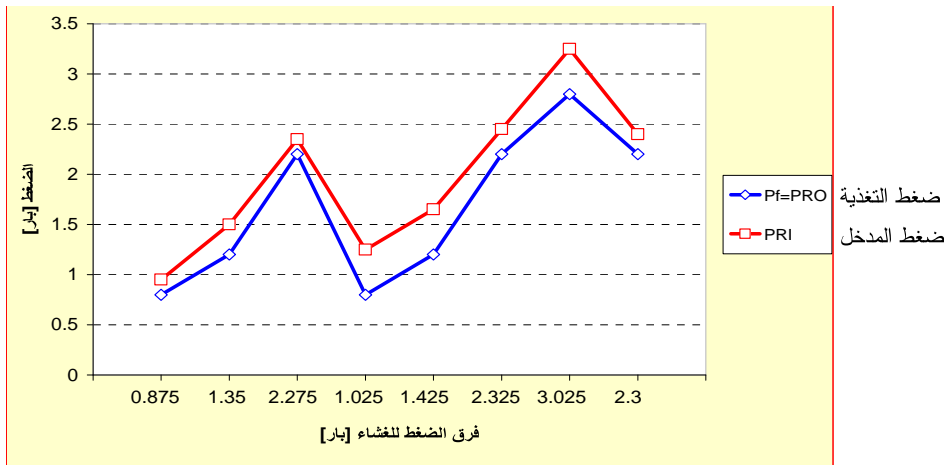
رابعاً - تأثير استعمال ضغوط تغذية مختلفة في أداء عملية الترشيح فوق العالي لمصل الجبن pH=7.0 (غشاء نقطة قطعه الجزيئية 150.000 دالتون):

نلاحظ من الشكل (5) أن معدل عبور البروتينات يزداد تدريجياً مع زيادة فرق الضغط (TMP) كونه يمثل القوة الدافعة لعبور الجزيئات من خلال مسامات الغشاء، ولكن مع زيادة الضغط إلى حد الضغط الحرج يصبح تأثير الضغط في زيادة معدل الترشيح معدوماً بسبب زيادة المقاومة الهيدروليكية لطبقة الهلام (الجيل) المتشكلة على سطح الغشاء والتي يزداد انضغاطها بفعل زيادة الضغط المطبق.



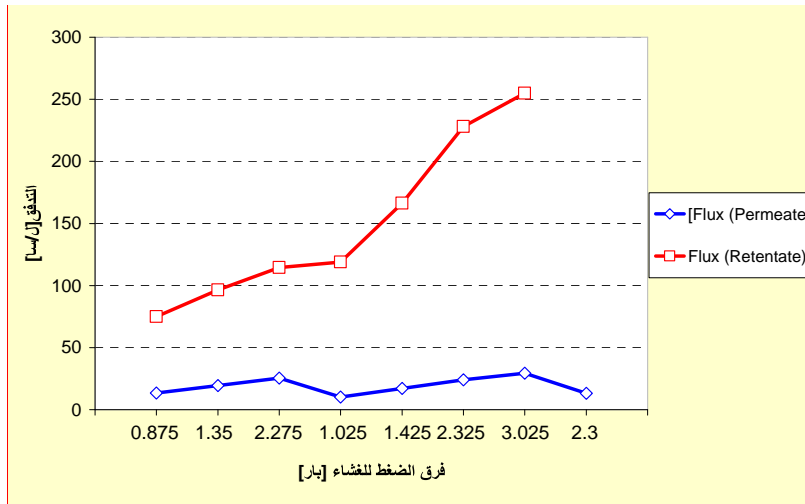
الشكل (5) تأثير فرق الضغط للغشاء في معدل عبور البروتينات ونسبة الألفالاكتالبومين إلى البييتالاكتوغلوبلين في الرشاحة (غشاء نقطة قطعه الجزيئية 150.000 دالتون، رشاحة الترشيح الدقيق لمصل الجبن pH=7.0).

ومن الشكل (6) نستنتج أن زيادة ضغط التغذية (PRO) يساعد في زيادة الضغط على مدخل خلية (PRI) الترشيح فوق العالي بفعل الاحتباس الذي يحدث للسائل في مقطع الجريان وهذا الارتفاع في معدل تدفق التغذية يساعد في تخفيض سماكة طبقة الهلام المتشكلة فوق سطح الغشاء ومن ثم انخفاض مقاومتها الهيدروليكية لعبور جزيئات الراشح الأمر الذي يؤدي بدوره إلى زيادة معدل تدفق الرشاحة.



الشكل (6) تأثير فرق الضغظ للغشاء في ضغظ التغذوية وضغظ المدخل (غشاء نقطة قطعه الجزينية 150.000 دالتون، ورشاحة الترشيح الدقيق لمصل الجبن pH=7.0).

كما نلاحظ في الشكل (7) أنه مع زيادة فرق الضغظ للغشاء (TMP) يزداد بشكل تدريجي تدفق الراشح (Permeate) نظراً لكونه يمثل القوة الدافعة لعبور الراشح من خلال مسامات الغشاء.



الشكل (7) تأثير فرق الضغظ للغشاء في تدفق الرشاحة والمركز (غشاء نقطة قطعه الجزينية 150.000 دالتون، رشاحة الترشيح الدقيق لمصل الجبن pH=7.0).

الختام

تظهر هذه الدراسة أهمية اختيار ظروف عملية الترشيح فوق العالي (الغشاء، نوع المصل، رقم الـpH، فرق الضغط للغشاء، معامل التركيز) التي تعطي نتائج مرضية من حيث عبور (انتقال) البروتينات ومعدلاً جيداً لتدفق الرشاحة، ومن المهم التحكم في ظروف عملية التشغيل كضغط ثابت مفضل ومعدل تغذية مناسب للوصول إلى معدل جيد لتدفق الرشاحة مع فصل انتخابي للبروتينات من المصل وبخاصة تلك المشحونة سلبياً، الألفالاكتالبومين (البروتين الهدف) والبيتالاكتوغلوبلين (البروتين الملوث).

يتناقض معدل تدفق الرشاحة وعبور البروتينات مع مرور الزمن وزيادة تركيز الجزء المركز وذلك بسبب انسداد مسامات الأغشية نتيجة تشكل طبقة من البروتينات على سطحها.

كما تؤدي زيادة فرق الضغط للغشاء إلى زيادة معدل تدفق الرشاحة وكذلك زيادة في معدل عبور البروتينات ولكن يصبح هذا التأثير معدوماً عند وصوله للضغط الحرج بسبب زيادة المقاومة الهيدروليكية لطبقة الهلام المتكونة على سطح الغشاء.

لا تتغير نقاوة البروتينات الصغيرة (الألفالاكتالبومين) كثيراً في الرشاحة مع مرور زمن الترشيح فوق العالي.

إن اصطلاح معدل الألفالاكتالبومين إلى البيتالاكتوغلوبلين في الرشاحة مفيد لدراسة اصطفائية وأداء أغشية الترشيح فوق العالي ولاسيما عندما يكون الهدف هو الحصول على هذه البروتينات بصورة منفردة أو على الأقل زيادة تركيز الألفالاكتالبومين في الرشاحة.

وكان الغرض من القيام بإجراء عملية ترشيح دقيق لمصل الجبن بعد تعديل رقم الحموضة إلى $pH=5.0$ بأغشية من السيراميك قطر مساحتها 0.1 ميكروناً هو التخلص من البكتريا والبروتينات العملاقة مثل غلوبولينات المناعة وألبومين المصل ومن ثم الحصول على رشاحة ترشيح دقيق تحتوي فقط على الألفالاكتالبومين والبيتالاكتوغلوبلين يمكن استخدامها في أجهزة الترشيح فوق العالي دون التعرض لمشاكل انسداد مساماتها.

REFERENCES المراجع

- عطرة، رمضان. (2000). استخدام نظم الفصل الغشائي في صناعة الألبان. أطروحة دكتوراه. بودابست. هنغاريا.
- AOAC, Association of Official American Chemists, (1990),
- Donnelly, W. Z. and Mehra, R. (1990). Fractionation of milk proteins. *Biochem. Soc. Trans.* 18(2): 1238.
- Elgar, P.; Novis, C. S.; Ayers, Z. S.; Pitchard, M.; Otter D. E.; Palmano K. P. (2000). Simultaneous separation and quantification of the major bovine whey proteins including proteose peptone and caseinomacropeptide by reversed phase high performance liquid chromatography on polystyrene-divinyl benzene. *J. Chro.* 878:183-196.
- Hurwitz, M. F. and Branthly, J. S. (2000). Shear separation: a promising method for protein fractionation. *Lait.* (80):121-127.
- IDF. (2003). The world dairy situation. *Bulletin* 384 20-21.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227:680-685.
- Lucas, D.; Rabiller-Baudry M.; Millesine, L.; Chaufer, B.; Daufin, G. (1998). Extraction of α -lactalbumin from whey protein concentrate with modified inorganic membranes. *J. Memb. Sci.* 148: 1-12.
- Maubois, J. L. and Olivier, G. (1997). Extraction of milk protein. *In: food proteins and their applications*. Ed. S.Damoduran and A. Paraf. pp.579-595, Marcel Dekker, New-York.
- Maubois, J. L; Fauquant, J.; Famelart, M. H. and Caussin, F. (2001). Milk micro-filtrate, a convenient starting material for fractionation. *Proc. 3rd Int. Whey Conf.* 59-79.
- Mehra, R. and Kelly, P. M. (2003). Whey protein fractionation using cascade membrane filtration. *IDF Conf. Fract. And Sepa:* 101-108.
- Muller, A.; Daufin, G. and Chaufer, B. (1999). Ultrafiltration modes of operation for separation of α -lactalbumin from acid casein whey. *J. Memb. Sci.* 153: 9-21.
- Van Reis, R.; Gadam, S.; Fraustschy, L.N.; Orelando, S.; Goodrich, E.M.; Saksena, S.; Kuyel, R.; Simpson, C. M.; Pearl, S. and Zydney, A. (1997). High performance tangential flow filtration. *Biotech. Bioeng.* 56: 71-82.
- Zydney, L. (1998). Protein separation using membrane filtration, New opportunities for whey fractionation. *Int. Dairy J.* 8:243-250.

Received	2007/01/25	إيداع البحث
Accepted for Publ.	2007/05/20	قبول البحث للنشر