



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الهندسة الزراعية

قسم علوم الأغذية

إنتاج صمغ الكزانتان من بكتيريا *Xanthomonas* المعزولة محلياً وتطبيقه في
بعض المنتجات الغذائية

**Producing Xanthan Gum from locally isolated *Xanthomonas*
Bacteria and Applied in Some Food Products**

رسالة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية (قسم علوم الأغذية)

إعداد المهندسة ليلى عبد العزيز

إشراف

المشرف المشارك

المشرف العلمي

أ.د. عبد الحكيم عزيزية

أ.د. صباح يازجي

قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة/جامعة دمشق

قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة/جامعة دمشق

2020-2019

تصريح

قدمت هذه الدراسة استكمالاً لمتطلبات الحصول على درجة الدكتوراه في قسم علوم الأغذية بكلية الزراعة في جامعة دمشق، والتي تحمل عنوان " إنتاج صمغ الكزانتان من بكتيريا *Xanthomonas* المعزولة محلياً وتطبيقه في بعض المنتجات الغذائية"، وأصرح بأنّ هذا البحث لم يسبق أن قُبل للحصول على أي شهادة وليس مُقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشحة

لينا صبحي عبد العزيز

Declaration

This work has been submitted in fulfillment of the requirements for degree of PhD in Food Science Department at the Faculty of Agricultural, Damascus University, that had the title “Producing Xanthan Gum from locally isolated *Xanthomonas* Bacteria and Applied in Some Food Products”; I hereby declared that this work has not been accepted for any degree yet, nor has been submitted concurrently for any other degree.

Candidate

Lina Subhi AbdulAziz

شهادة

نشهد بأن العمل الموصوف في هذه الرسالة:

"إنتاج صمغ الكزانتان من بكتيريا *Xanthomonas* المعزولة محلياً وتطبيقه في بعض المنتجات الغذائية" جاء نتيجة بحث علمي قامت به المرشحة لينا صبحي عبد العزيز بإشراف الأستاذة الدكتور صباح اليازجي من قسم علوم الأغذية في كلية الزراعة بجامعة دمشق، والأستاذ الدكتور عبد الحكيم عزيزية من قسم علوم الأغذية في كلية الزراعة بجامعة دمشق، وإنّ المراجع المستخدمة في هذه الرسالة موثقة أصولاً في متن النص.

المشرف العلمي
أ.د. صباح اليازجي

المشرف المشارك
أ.د. عبد الحكيم عزيزية

المرشحة
لينا عبد العزيز

Certificate

We hereby certify that this thesis:

“Producing Xanthan Gum from locally isolated *Xanthomonas* Bacteria and Applied in Some Food Products” is a result of a scientific research conducted by the candidate Lina Subhi AbdulAziz, under supervision of Prof. Sabah Yaziji, in Food Science Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, and Prof. Abdulhakim Azizieh, in Food Science Department, Faculty of Agriculture, Damascus University, and any other references have been mentioned in this work are documented in the text of the thesis.

Candidate
Lina AbdulAziz

Co-supervisor
Abdulhakim Azizieh

Supervisor
Sabah Yaziji

قرار اللجنة

نوقشت أطروحة الدكتوراه لل طالبة لنا صبحي عبد العزيز وهي بعنوان " إنتاج صمغ الكزانتان من بكتيريا *Xanthomonas* المعزولة محلياً وتطبيقه في بعض المنتجات الغذائية"، وذلك في يوم الثلاثاء الواقع في 2020/11/10 من قبل لجنة الحكم المؤلفة من السادة:

الأستاذ في قسم علوم الأغذية

أ.د. سمير سليق

كلية الزراعة – جامعة دمشق

الأستاذ في قسم علوم الأغذية

أ.د. محمد خير طحلة

كلية الزراعة – جامعة دمشق

الأستاذ في قسم علوم الأغذية

أ.د. عبد الوهاب مرعي

كلية الزراعة – جامعة دمشق

الأستاذ في قسم علوم الأغذية

أ.د. محمد المصري

كلية الزراعة – جامعة البعث

الأستاذ في قسم علوم الأغذية

أ.د. صباح يازجي

كلية الزراعة – جامعة دمشق

شكر وإهداء

بعد الشكر والامتنان لله عز وجل الذي يسر لي كل الدروب في سبيل إتمامي هذا البحث، وبكل الحب والوفاء وبأرق كلمات الشكر والثناء، أتقدم بالشكر الكبير لأساتذتي الفاضلين الذين ساندوني بعلمهم ومشاعرهم طيلة سنوات دراستي، حيث أثمرت مساندتهم في إتمام رسالتي هذه وإنجاحها.....

أساتذتي في قسم علوم الأغذية

وتقف كلماتي حائرة أمام شكر أساتذتي الغالية على قلبي، والتي لم تبخل منذ الدرس الأول الذي تلقيته عندها في صفوف دراستي الجامعية الأولى وحتى لحظة إنهاءي رسالة الدكتوراه بإعطائي النصح والمعلومة الشاملة لكافة جوانب الحياة، أساتذتي التي تكرمت بالإشراف على أطروحتي...

الأستاذة الدكتورة صباح يازجي

وأواصل الشكر والامتنان لأستاذتي العزيز الذي اعتبره بمقام الأخ الأكبر لي، الذي قدم لي بابتسامته المتفائلة الدعم والمحبة الكبيرة في حياتي العلمية والعملية القصيرة، وساهم في الإشراف على رسالتي.....

الأستاذ الدكتور عبد الحكيم عزيزية

وتبخل عبارات الشكر من أساتذتي أعضاء لجنة الحكم على الرسالة، الذين قدموا الوقت والجهد من أجل تحكيم هذه الرسالة وإغنائها بملاحظاتهم العلمية القيّمة.

الأستاذ الدكتور سمير سليق، الأستاذ الدكتور محمد خير طحلة

الأستاذ الدكتور عبد الوهاب مرعي، الأستاذ الدكتور محمد المصري

إن قلت شكراً، فشكري لن يوفي حق كل دعوة كانت مستجابة منها، وكل نظرة حُب وحنان كانت ترمقني إياها خلال سنوات حياتي منذ أن تفتحت عينايا على وجهها الملائكي وحتى هذه اللحظة.....

أمي الغالية (أدامك الله لي بالصحة والعافية)

وما نجاحي وإصراري في متابعة الدراسة قد أتى لولا دعمكم لي ومشاركتكم لي لحظات فرحي وأحزاني، قدوتي في الحياة.....

أخوتي الغوالي (ليندا، أنس، سامر)

والشكر والتقدير للتعاون الذي بُذل من كل من ساهم في مساندتي لإتمام هذا البحث من السادة الأساتذة العاملين في الهيئة العامة للتقانة الحيوية في كلية الزراعة في دمشق، ووزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية.

وأخيراً وليس أخراً بطاقة عرفان وامتنان لأصدقائي وزملائي الذين لم يخلوا في تقديم العون والنصح والدعم المعنوي لي منذ إن شاءت الأقدار لقائي بهم وحتى تاريخه.....

عهد أبو يونس، ميس البيتموني، ريتا عبد الرحمن، آلاء سليمان

غانية شرف، حسام الدين سبيني، وسيم البلخي، غسان سكرية

طارق جوهرة، بسام ملص، ناصر الماهر (مع حفظ الألقاب).

فهرس المحتويات

العناوين	رقم الصفحة
الفهرس	VII
قائمة الجداول	XIII
قائمة الأشكال	XVI
قائمة الملحق	XVIII
قائمة الاختصارات	XIX
الملخص	XXII
1. المقدمة	1
2. مبررات وأهداف البحث	5
2.1. مبررات البحث	5
2.2. أهداف البحث	5
3. الدراسة المرجعية	7
3.1. الغرويات المائية	8
3.2. السكريات المتعددة	10
3.3. صمغ الكزانتان	12
3.3.1. اكتشاف صمغ الكزانتان	12
3.3.2. البنية الهيكلية لصمغ الكزانتان	13
3.3.3. تصنيف بكتيريا <i>Xanthomonas</i>	15
3.3.4. إنتاج صمغ الكزانتان	18
3.3.4.1. المغذيات الرئيسية في إنتاج صمغ الكزانتان	21
3.3.4.1.1. مصادر الكربون	21
3.3.4.1.2. مصادر النتروجين	22
3.3.4.2. العوامل المؤثرة في إنتاج صمغ الكزانتان	23
3.3.5. استخدامات صمغ الكزانتان وخصائصه	25
3.4. الأطعمة منخفضة السعرات الحرارية	29

29	3.4.1. لمحة تاريخية عن الأطعمة منخفضة السرعات الحرارية
31	3.4.2. منتجات اللحوم
33	3.4.3. البرغر البقري
37	4. مواد البحث وطرائق التحليل
44	4.1. جمع وعزل البكتيريا المنتجة لصبغ الكزانتان
46	4.2. الاختبارات المورفولوجية والحيوية الكيميائية لتحديد نوع بكتيريا <i>Xanthomonas</i>
46	4.2.1. اختبار الكتالاز
47	4.2.2. اختبار الأوكسيداز
47	4.2.3. اختبار انطلاق غاز كبريت الهيدروجين H_2S
47	4.2.4. اختبار اليورياز
47	4.2.5. اختبار صبغة غرام KOH حسب طريقة Ryu
48	4.2.6. اختبار إنتاج الأنول
48	4.2.7. اختبار إنتاج الأستيون
48	4.2.8. اختبار إرجاع النترات
48	4.2.9. اختبار حلمأة النشاء
49	4.3. اختبارات تحديد نوع بكتيريا <i>Xanthomonas</i> وفق تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR
50	4.3.1. استخلاص المادة الوراثية DNA من البكتيريا
51	4.3.2. تطبيق تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR
51	4.3.2.1. مورثة RpfB التي تتحكم بتعبير المورثات المسؤولة عن إنتاج السكريات المتعددة عند جنس بكتيريا <i>Xanthomonas</i>
51	4.3.2.2. مورثة ERIC الخاصة بالبصمة الوراثية
52	4.3.3. الرحلان الكهربائي وتحليل النتائج
52	4.4. إنتاج صبغ الكزانتان عن طريق التخمير بالوسط السائل
53	4.4.1. مرحلة تحضير المزرعة الأم
53	4.4.2. مرحلة تحضير وسط التخمير النهائي
53	4.4.2.1. مكونات وسط التخمير
56	4.4.2.2. تحضير وسط التخمير النهائي

57	4.4.3. أمثلة ظروف إنتاج صمغ الكزانتان
58	4.4.4. مرحلة الحصول على صمغ الكزانتان بصورته النقية وتقدير الكمية المنتجة
58	4.4.4.1. تقدير الكتلة الحيوية
58	4.4.4.2. استخلاص صمغ الكزانتان
59	4.4.4.3. التأكد من هوية ونقاوة صمغ الكزانتان
59	4.5. دراسة الخصائص الريولوجية لصمغ الكزانتان
60	4.6. إعداد خلطات البرغر البقري
60	4.6.1. تحضير المواد الأولية
61	4.6.2. تحضير أقراص البرغر البقري
62	4.6.3. حفظ البرغر البقري بالتجميد
62	4.6.4. طبخ البرغر البقري
63	4.7. اختبارات البرغر البقري
63	4.7.1. الاختبارات الكيميائية
63	4.7.1.1. الرطوبة
63	4.7.1.2. البروتين
63	4.7.1.3. الدسم
63	4.7.1.4. الرماد
64	4.7.1.5. تقدير التزنخ (تأكسد الدهون)
64	4.7.1.6. تقدير الملوثات المعدنية
64	4.7.2. الاختبارات الفيزيائية
64	4.7.2.1. فاقد الطبخ
65	4.7.2.2. النقلص (تغير القطر)
65	4.7.3. الاختبارات الجرثومية
65	4.7.3.1. التعداد العام للأحياء الدقيقة
65	4.7.3.2. بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية موجبة التخثر
66	4.7.3.3. بكتيريا السالمونيلا
66	4.7.3.4. بكتيريا الكوليفورم

66	4.7.3.5. بكتيريا الأشريكية القولونية الممرضة
67	4.7.3.6. التعداد العام للخمائر والفطور
67	4.7.3.7. تحضير عينات الاختبار والتخفيفات المطلوبة لكافة الاختبارات الجرثومية
67	4.7.4. الاختبارات الحسية
69	4.8. التحليل الإحصائي
72	5. النتائج والمناقشة
73	5.1. نتائج جمع وعزل البكتيريا المنتجة لصبغ الكزانتان
76	5.2. اختبارات تحديد نوع بكتيريا <i>Xanthomonas</i> وفق الطرائق المورفولوجية والحيوية الكيميائية
78	5.3. اختبارات تحديد نوع بكتيريا <i>Xanthomonas</i> وفق تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR
81	5.4. نتائج إنتاج صبغ الكزانتان عن طريق التخمير بالوسط السائل
81	5.4.1. نتائج التجربة الأولية لانتقاء أفضل مصدريين من الكربون والنتروجين ضمن برنامج ثابت من شروط عملية التخمير المدروسة
82	5.4.1.1. نتائج تأثير اختلاف مصادر الكربون في إنتاج صبغ الكزانتان
85	5.4.1.2. نتائج تأثير اختلاف مصادر النتروجين في إنتاج صبغ الكزانتان
88	5.4.1.3. نتائج أثر استخدام مصادر مختلفة من الكربون والنتروجين في إنتاج صبغ الكزانتان
89	5.4.2. نتائج دراسة الظروف المثلى لإنتاج صبغ الكزانتان (أمثلة ظروف إنتاج صبغ الكزانتان)
91	5.4.2.1. تحديد أفضل نماذج معاملات تصميم تجربة اعتماداً على السكروز كمصدر للكربون
96	5.4.2.2. تحديد أفضل نماذج معاملات تصميم تجربة اعتماداً على مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون
100	5.4.2.3. تحديد أفضل نماذج معاملات تصميم تجربة اعتماداً على مصل اللبن كمصدر للكربون
106	5.4.2.4. أثر درجة حرارة الحضانة في إنتاج صبغ الكزانتان
108	5.4.2.5. أثر الفترة الزمنية لعملية التخمير في إنتاج صبغ الكزانتان
110	5.4.2.6. أثر درجة حموضة الوسط (pH) في إنتاج صبغ الكزانتان

112	5.4.2.7. أثر معدل الخلط في إنتاج صمغ الكزانثان
113	5.4.3. نتائج تقدير الكتلة الحيوية الجافة لبكتيريا <i>Xanthomonas campestris</i>
116	5.4.4. نتائج التأكد من هوية ونقاوة صمغ الكزانثان
118	5.5. نتائج دراسة الخصائص الريولوجية لصمغ الكزانثان
122	5.6. نتائج الاختبارات المطبقة على البرغر البقري
122	5.6.1. نتائج الاختبارات الكيميائية
123	5.6.1.1. الرطوبة
124	5.6.1.2. البروتين
126	5.6.1.3. الدسم
127	5.6.1.4. الرماد
128	5.6.1.5. الملح
129	5.6.1.6. التزنخ التأكسدي (تأكسد الدهون)
131	5.6.1.7. تقدير الملوثات المعدنية
132	5.6.2. نتائج الاختبارات الفيزيائية
133	5.6.2.1. فاقد الطبخ
135	5.6.2.2. التقلص (تغير القطر)
137	5.6.3. نتائج الاختبارات الجرثومية
138	5.6.3.1. التعداد العام للأحياء الدقيقة
140	5.6.3.2. بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية موجبة التخثر
140	5.6.3.3. بكتيريا السالمونيلا
141	5.6.3.4. بكتيريا الكوليفورم
142	5.6.3.5. بكتيريا الأشريكية القولونية الممرضة
142	5.6.3.6. التعداد العام للخمائر والفطور
143	5.6.4. نتائج الاختبارات الحسية
148	6. الاستنتاجات والتوصيات
149	6.1. الاستنتاجات
150	6.2. التوصيات

152	7. المراجع العلمية
153	7.1. المراجع العربية
155	7.2. المراجع الأجنبية
172	8. الملاحق

فهرس الجداول

رقم الصفحة	المحتوى	رقم الجدول
9	تصنيف أهم الغرويات المائية المستخدمة في الأغذية	1
28	أنواع المنتجات الغذائية التي يدخل في إنتاجها صمغ الكزانتان	2
33	الشروط الكيميائية للبرغر وفق المواصفة القياسية السورية رقم 2836 للعام 2003.	3
39	الأوساط والبيئات المستخدمة في التحاليل الجرثومية والحيوية الكيميائية	4
40	المواد المستخدمة في تقنية البلمرة المتسلسلة PCR	5
41	المواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات الكيميائية والتخمير	6
42	المعدات والأجهزة المستخدمة في الاختبارات الكيميائية والجرثومية والعمليات التصنيعية	7
45	عدد العينات المأخوذة من كل محافظة ونوع النبات مع أعراض الإصابة	8
50	البادئات (المرئسات) المستخدمة في التأكد من هوية بكتيريا <i>Xanthomonas</i> وفق تفاعل البلمرة المتسلسلة PCR	9
53	مصادر النتروجين المعدنية والعضوية المستخدمة في عملية التخمير	10
55	مصادر الكربون المستخدمة في عملية التخمير	11
56	العناصر الغذائية المستخدمة في وسط التخمير النهائي	12
56	محاليل (أوساط) التخمير النهائية التي حضرت من أجل إنتاج صمغ الكزانتان	13
62	مكونات خلطات البرغر البقري كنسبة مئوية	14
68	مقياس اختبار الصفات الحسية لمعاملات البرغر البقري	15
69	المتغيرات المدروسة ومستوياتها موضوعة باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab.	16
70	التصميم الإحصائي للتجارب باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab.	17
76	الصفات المورفولوجية لعزلات بكتيريا <i>Xanthomonas</i> .	18
77	الصفات الحيوية الكيميائية المميزة لعزلات بكتيريا <i>Xanthomonas</i>	19
81	شروط المرحلة الأولية لعملية التخمير لإنتاج صمغ الكزانتان	20
82	مردودية إنتاج صمغ الكزانتان في التجربة الأولية باستخدام مصادر مختلفة من الكربون والنتروجين	21

85	اختبار Bonferroni للفروق الثنائية المتعددة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصدر الكربون	22
87	اختبار Bonferroni للفروق الثنائية المتعددة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصدر النتروجين	23
89	تحليل ANOVA لاختبار الفروق العوامل المؤثرة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصادر الكربون والنتروجين	24
90	الكميات المنتجة من صمغ الكزانتان حسب برنامج التصميم الإحصائي المعتمد	25
92	اختبار تحليل التباين للفروق ANOVA في إنتاج الكزانتان حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على السكروز كمصدر للكربون	26
92	المقارنات الثنائية لأثر المتغيرات الأربعة في إنتاج صمغ الكزانتان	27
94	ترتيب معدلات إنتاج الكزانتان تنازلياً حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على السكروز كمصدر للكربون	28
96	اختبار تحليل التباين للفروق ANOVA في إنتاج الكزانتان حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون	29
97	المقارنات الثنائية ما بين المتغيرات الأربعة المؤثرة على إنتاج صمغ الكزانتان	30
98	ترتيب معدلات إنتاج الكزانتان تنازلياً حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون	31
100	اختبار تحليل التباين للفروق ANOVA في إنتاج الكزانتان حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على مصل اللبن كمصدر للكربون	32
101	المقارنات الثنائية لأثر المتغيرات الأربعة على إنتاج صمغ الكزانتان	33
103	ترتيب معدلات إنتاج الكزانتان تنازلياً حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على مصل اللبن كمصدر للكربون	34
105	اختبار تحليل التباين ANOVA للفرق بين معدلات إنتاج صمغ الكزانتان المثلى وفق معاملات تصميم التجربة تبعاً لمصادر الكربون الثلاث	35
106	ترتيب أهم معاملات التجربة ومصادر الكربون من حيث متوسط كمية إنتاج صمغ الكزانتان	36
107	تحليل ANOVA لاختبار أثر درجة حرارة الحضانة في إنتاج صمغ الكزانتان	37
109	تحليل ANOVA لاختبار أثر الفترة الزمنية لعملية التخمير في إنتاج صمغ الكزانتان	38

110	تحليل ANOVA لاختبار أثر درجة pH وسط التخمير في إنتاج صمغ الكزانتان	39
112	تحليل ANOVA لاختبار أثر سرعة الخلط في إنتاج صمغ الكزانتان	40
113	تحليل التباين العاملي لاختبار الفروق بين العوامل المؤثرة في تقدير الكتلة الحيوية لبكتيريا <i>X.campestris</i> حسب مصادر الكربون والنيتروجين.	41
117	أطياف المجموعات الوظيفية في صمغ الكزانتان	42
131	محتوى الرصاص والزنك (ملغ/كغ) في عينات البرغر البقري	43

فهرس الأشكال

رقم الشكل	عنوان الشكل	رقم الصفحة
1	البنية الهيكلية لصمغ الكزانتان .	15
2	مخطط أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان.	44
3	المخطط التكنولوجي لتحضير وصناعة البرغر البقري	60
4	صور توضيحية عن أعراض الإصابة ببكتيريا <i>Xanthomonas</i> على النباتات.	74
5	المستعمرات البكتيرية لبكتيريا <i>Xanthomonas</i> على بيئة GYCA.	75
6	نتائج الرحلان الكهربائي على هلامه أغاروز باستخدام زوج مرئسات RpfBF و RpfBR لعزلات بكتيريا <i>Xanthomonas campestris</i> الستة (-1-3-2A-5A-1A) (3B مقارنة مع زوج المرئسات R).	80
7	نتائج الرحلان الكهربائي على هلام أغاروز باستخدام زوج مرئسات ERIC1R و ERIC2 لعزلات بكتيريا <i>Xanthomonas campestris</i> الستة (-1-3-2A-5A-1A) (3B مقارنة مع زوج المرئسات E).	80
8	تأثير اختلاف مصدر الكربون في إنتاج صمغ الكزانتان	83
9	متوسط مردود إنتاج صمغ الكزانتان باختلاف مصدر النتروجين	88
10	الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام السكر ك مصدر للكربون.	95
11	أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام السكر اعتماداً على RSM	95
12	الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مولايس الشوندر السكري كمصدر للكربون.	99
13	أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مولايس الشوندر السكري اعتماداً على RSM	99
14	الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مصل اللبن كمصدر للكربون.	104
15	أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مصل اللبن اعتماداً على RSM	104
16	تأثير عامل درجة الحرارة الحضانة في إنتاج صمغ الكزانتان	108
17	تأثير عامل الفترة الزمنية لعملية التخمر في إنتاج صمغ الكزانتان	109
18	تأثير عامل درجة pH الوسط في إنتاج صمغ الكزانتان	111
19	تأثير عامل سرعة الخلط في إنتاج صمغ الكزانتان	112
20	تأثير مصدر الكربون في ناتج الكتلة الحيوية الجافة لبكتيريا <i>X.campestris</i>	114
21	تأثير اختلاف مصدر النتروجين في تقدير الكتلة الحيوية الناتجة لبكتيريا <i>X.campestris</i> .	115
22	طيف الأشعة تحت الحمراء لصمغ الكزانتان باستخدام تقنية FT-IR	118

23	توزع التباين للأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الخصائص الريولوجية لصبغ الكزانتان	120
24	تأثير المعاملات المدروسة في لزوجة صبغ الكزانتان المنتج	121
25	تأثير المعاملات المدروسة في لزوجة صبغ الكزانتان التجاري	121
26	نتائج اختبار توزع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة	122
27	تأثير المعاملات المدروسة في المحتوى الرطوبي لخلطات البرغر البقري.	124
28	تأثير المعاملات المدروسة في محتوى البرغر البقري من البروتين.	125
29	تأثير كل المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الدسم	126
30	تأثير كل المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الرماد.	128
31	تأثير كل المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الملح.	129
32	تأثير كل المعاملات المدروسة في قيم التزنخ التأكسدي للبرغر البقري مقدرة ك TBARS.	130
33	نتائج اختبار توزع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في عينات الشاهد	132
34	نتائج اختبار توزع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في خلطات البرغر	133
35	تأثير عملية الحفظ بالتجميد في معدل فاقد الطبخ في عينات الشاهد من البرغر البقري	134
36	تأثير المعاملات المدروسة في فاقد الطبخ للبرغر البقري.	135
37	تأثير فترة الحفظ بالتجميد في معدل التقلص (تغير القطر) لعينات الشاهد من البرغر البقري	136
38	تأثير المعاملات المدروسة في معدل التقلص (تغير القطر) لخلطات البرغر البقري	137
39	نتائج اختبار توزع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الحمولة الجرثومية لعينات الشاهد	138
40	نتائج اختبار توزع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الحمولة الجرثومية لخلطات البرغر البقري	138
41	تأثير المعاملات المدروسة في التعداد العام للأحياء الدقيقة في البرغر البقري	140
42	تأثير المعاملات المدروسة في تعداد بكتيريا الكوليفورم للبرغر البقري.	142
43	نتائج توزع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الشاهد	143
44	نتائج توزع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الصفات الحسية لخلطات البرغر البقري	144
45	تأثير فترة الحفظ بالتجميد في الصفات الحسية لعينات الشاهد	145
46	تأثير فترة الحفظ بالتجميد في الصفات الحسية لعينات البرغر البقري	147

فهرس الملاحق

رقم الملحق	مضمون الملحق	رقم الصفحة
1	جدول 1. تقدير الكتلة الحيوية الجافة الناتجة عن بكتيريا <i>X.campestris</i> باستخدام مصادر مختلفة من الكربون والنيتروجين.	172
	جدول 2. تقدير كل من الكتلة الحيوية الجافة الناتجة عن بكتيريا <i>X.campestris</i> وكمية صمغ الكزانثان الناتجة باستخدام أفضل المعاملات مطبقة في أمثلة إنتاج صمغ الكزانثان.	173
	جدول 3. متوسط قيم لزوجة صمغ الكزانثان باختلاف كل من عامل درجة حرارة ودرجة pH الوسط وتركيز الصمغ.	174
2	استمارة تقييم حسي	176
3	جدول 4. نتائج المحتوى الكيميائي لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.	177
	جدول 5. نتائج الاختبارات الفيزيائية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.	177
	جدول 6. نتائج تقدير الملوثات المعدنية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ بالتجميد.	178
	جدول 7. متوسط نتائج الاختبارات الحسية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ بالتجميد.	178
	جدول 8. نتائج الاختبارات الميكروبية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ بالتجميد.	179
	جدول 9. متوسط نتائج المحتوى الكيميائي لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات التخزين المجمد	180
4	جدول 10. متوسط نتائج تقدير الملوثات المعدنية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات التخزين المجمد	182
	جدول 11. متوسط نتائج الاختبارات الفيزيائية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات التخزين المجمد	183
	جدول 12. متوسط نتائج الاختبارات الحسية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات التخزين المجمد	184
	جدول 13. متوسط نتائج الاختبارات الميكروبية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات التخزين المجمد	186
	جدول 14. الاشتراطات الجرثومية وفق المواصفة القياسية السورية 2179 لعام 2007	188

قائمة الاختصارات

الاختصار	المعنى بالانكليزي	المعنى بالعربي
م.ق.س	Syrian Standard	المواصفة القياسية السورية
AAS	<u>A</u> tom <u>i</u> c <u>A</u> bsor <u>p</u> tion <u>S</u> pectroscopy	مطيافية الامتصاص الذري
ADI	<u>A</u> cc <u>e</u> ptable <u>D</u> aily <u>I</u> ntake	الجرعة اليومية المقبولة
ANOVA	<u>A</u> nalysis <u>O</u> f <u>V</u> ariance	تحليل التباين
A.O.A.C	<u>A</u> ssociation of <u>O</u> fficial <u>A</u> nal <u>y</u> tical <u>C</u> hemists	رابطة الكيميائيين التحليليين الرسميين
bp	<u>b</u> ase pairs	زوج أو شفع أساسي
BPW	<u>B</u> uffer <u>P</u> eptone <u>W</u> ater	ماء البيبتون الموقي
CAS	<u>C</u> hemical <u>A</u> bstr <u>a</u> cts <u>S</u> ervice	دائرة المستخلصات الكيميائية
COD	<u>C</u> hemical <u>O</u> xygen <u>D</u> emand	احتياجات الأوكسجين الكيميائية
DNA	<u>D</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>A</u> cid	حمض النووي الريبسي منقوص الأكسجين
EINECS	<u>E</u> uropean <u>I</u> nv <u>e</u> ntory of <u>E</u> xisting <u>C</u> ommercial chemical <u>S</u> ubstances	الجرد الأوروبي للمواد الكيميائية التجارية الموجودة
EPPO	<u>E</u> uropean and Mediterranean <u>P</u> lant <u>P</u> rotection <u>O</u> rganization	منظمة حماية النباتات الأوروبية والمتوسطية
EPSs	<u>E</u> xtracellular <u>P</u> olysaccharides	السكريات المتعددة الخارجية
EU	<u>E</u> uropean <u>U</u> nion	الاتحاد الأوروبي

FDA	<u>F</u> ood and <u>D</u> rug <u>A</u> dministration	منظمة الغذاء والدواء
GYCA	<u>G</u> lucose (Dextrose) <u>Y</u> east extract <u>C</u> alcium Carbonate <u>A</u> gar	وسط أغار غلوكوز (ديكستروز) مستخلص الخميرة مع كربونات الكالسيوم
HPLC	<u>H</u> igh <u>P</u> erformance <u>L</u> iquid <u>C</u> hromatography	الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء
INS	The <u>I</u> nternational <u>N</u> umbering <u>S</u> ystem for Food Additives	نظام الترقيم العالمي للمواد الحافظة
ISO	<u>I</u> nternational <u>O</u> rganization for <u>S</u> tandardization	منظمة المقاييس العالمية
MDA	<u>M</u> alondialdehyde	مالون دي- الدهيد
MOAAR	<u>M</u> inistry of <u>A</u> griculture and <u>A</u> grarian <u>R</u> eform in Syria	وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي
NRRL	<u>N</u> orthern <u>R</u> egional <u>R</u> esearch <u>L</u> ab	مختبر البحوث الإقليمي الشمالي
PCR	<u>P</u> olymerase <u>C</u> hain <u>R</u> eaction	تفاعل البلمرة المتسلسل
pH	<u>P</u> otential <u>H</u> ydrogen	الهيدروجين المتأين
RNA	<u>R</u> ibonucleic <u>A</u> cid	حمض النووي الريبوي
RSM	<u>R</u> esponse <u>S</u> urface <u>M</u> ethodology	تصميم التجارب المتقدم
SmF	<u>S</u> ubmerged <u>F</u> ermentation	التخمير المغمور
SPSS	<u>S</u> tatistical <u>P</u> ackage for <u>S</u> ocial <u>S</u> ciences	الحزمة الإحصائية للعلوم الاجتماعية
SSF	<u>S</u> olid - <u>S</u> tate <u>F</u> ermentation	التخمير بالوسط الصلب
TBE	<u>T</u> ris-base <u>B</u> orate- <u>E</u> DTA	بورات ثنائي أمين الإيثيلين رباعي

		حمض الأسيتيك
TBARS	<u>Thiobarbituric Acid Reactive Substances</u>	المواد التفاعلية لحمض الثيوباربيتوريك
TPC	<u>Total Plat Count</u>	التعداد العام للأحياء الدقيقة
USDA	<u>Unite States Department of Agriculture</u>	وزارة الزراعة الأمريكية
UV	<u>Ultraviolet</u>	الأشعة فوق البنفسجية
a_w	<u>Water activity</u>	النشاط المائي
<i>X.campestris</i>	<u><i>Xanthomonas campestris</i></u>	كزانتومونزس كامبيسترس
YPD	<u>Dextrose Yeast extract Peptone broth</u>	مرق الديكستروز ومستخلص الخميرة والبيبتون

الملخص

هدف هذا البحث إلى التحري عن عزلات محلية من بكتيريا *Xanthomonas campestris*، حيث عُزلت (60) عزلة بكتيرية من عينات لنباتات مصابة (الملفوف، الزهرة، الخس، القمح) مجموعة من خمسة محافظات سورية (دمشق وريفها، حمص، وحماة، وطرطوس)، نتج عنها بالغلبة حسب الخصائص الشكلية والطرائق الحيوية الكيميائية (32) عزلة موافقة لمواصفات بكتيريا *X.campestris*، وأُخضعت فيما بعد هذه العزلات إلى تقانة PCR للتأكد من النوع *X.campestris* عبر التأكد من وجود كل من المورثة RpfB، والمورثة ERIC ضمن المادة الوراثية للبكتيريا المعزولة باستخدام مجموع من المرئسات المناسبة، حيث ثبت وجود ستة عزلات تعود إلى النوع *X.campestris*.

دُرس اختلاف أثر كل من مصدر الكربون (مولاس الشوندر السكري، ومصل اللبن، والسكرورز) ومصدر النتروجين (نترات الأمونيوم، ونترات البوتاسيوم، وكلور الأمونيوم، وكبريتات الأمونيوم، والبيبتون العضوي) في إنتاج صمغ الكزانتان وفق طريقة التخمير بالوسط السائل بواسطة بكتيريا *X.campestris* المعزولة محلياً، وذلك ضمن شروط ثابتة لعملية التخمير: درجة حرارة الحضانة (32)م، ومدة التخمير (60) ساعة، ودرجة pH (7)، وسرعة الخلط (250) دورة في الدقيقة، وأكدت النتائج وبشكل معنوي ($P \leq 0.05$) تفوق مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون في إنتاج أعلى كمية من صمغ الكزانتان والتي بلغت (11.43) غ/ل، مقارنة مع بقية المصادر، وجاء السكرورز في المرتبة الثانية كأفضل مصدر للكربون، وبكمية إنتاج من صمغ الكزانتان قد بلغت (11.34) غ/ل، في حين احتل مصل اللبن المرتبة الأخيرة كأفضل مصدر للكربون وذلك بمتوسط إنتاج من صمغ الكزانتان قد بلغ (10.98) غ/ل، إلى جانب ذلك أثبتت نترات الأمونيوم بأنه الأفضل كمصدر للنتروجين وبمتوسط إنتاج من صمغ الكزانتان قد بلغ (13.67) غ/ل، تلاه كل من البيبتون العضوي ونترات البوتاسيوم كأفضل مصدرين للنتروجين ($P \leq 0.05$) حيث تراوح متوسط الانتاج ما بين (11.83، 12.25) غ/ل من صمغ الكزانتان، أُجري بعد ذلك أمثلة ظروف إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام كل من نترات الأمونيوم كمصدر للنتروجين ومولاس الشوندر السكري، والسكرورز، ومصل اللبن كمصدر للكربون، واعتماداً على برنامج تصميم التجارب المتقدم RSM، نُفذت 30 تجربة تضمنت دراسة أثر اختلاف كل من درجة حرارة الحضانة (28، 30، 32، 34، 36) م، والفترة الزمنية للتخمير (36، 48، 60، 72، 90) ساء، ودرجة pH الوسط (5، 6، 7، 8، 9) وسرعة الخلط (150، 200، 250، 300، 400) دورة/دقيقة في إنتاج صمغ الكزانتان، حيث أظهرت النتائج وجود دلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) لأثر كل من هذه العوامل الأربعة في مردودية إنتاج صمغ الكزانتان، وبعد استبعاد معاملات تصميم التجربة التي نتج عنها كميات من صمغ الكزانتان تقل عن (7) غ/ل، تبين بأن أفضل معاملة

($P \leq 0.05$) في إنتاج صمغ الكزانتان، كانت ذات الرقم (24)، والمتضمنة تطبيق الشروط التالية وهي (درجة حرارة الحضانة (32) م°، والفترة الزمنية لعملية التخمير (90) ساعة، ودرجة pH الوسط (7)، وسرعة الخلط (250) د/د)، وباستخدام كل من مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون وبنترات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين، وبمتوسط إنتاج من صمغ الكزانتان قد بلغ (18.31) غ/ل.

كما درست الخصائص الريولوجية لصمغ الكزانتان الناتج لبيان مدى تأثير لزوجة الصمغ وثباتها خلال التغييرات المختلفة لكل من درجة حرارة (25، 40، 60، 80) م°، ودرجة حموضة (3.5، 5، 7، 9) محاليل صمغ الكزانتان، إضافة إلى التركيز المستخدم من الصمغ (0.5، 1، 1.5) %، حيث ثبت تأثير لزوجة صمغ الكزانتان لدى إضافة تراكيز مختلفة من صمغ الكزانتان، وتغير درجة حرارة المحاليل المضاف لها صمغ الكزانتان وبصورة معنوية ($P \leq 0.05$)، بينما لم تؤثر تغيرات درجة pH الوسط في لزوجة الصمغ، وثباتها ضمن المجالات المختلفة من درجة الحموضة.

استخدم صمغ الكزانتان المنتج محلياً ضمن صناعة منتج البرغر البقري، حيث درست كل من الخصائص الكيميائية والميكروبية والفيزيائية والحسية لبرغر اللحم البقري قليل الدهن (10، 15، 20، 25) % الذي احتوى على تراكيز مختلفة من صمغ الكزانتان (0.5، 1، 1.5) % المضاف كبديل للدهون، مقارنة مع البرغر البقري التقليدي (30) % دسم، حيث عمل الاستبدال الجزئي للدهون مع صمغ الكزانتان في الحفاظ على ثباتية صفات خلطات البرغر المجمد خلال فترات التخزين المجمدة المختلفة (30، 60، 90 يوماً)، وقد كشفت نتائج الدراسة إمكانية تحضير منتج البرغر البقري قليل الدهن لا يتجاوز محتواه من الدسم 10 %، عبر إضافة 70 % لحم عجل مفروم ومزيج من الماء والكزانتان بنسبة 20 % يتضمن هذا المزيج إما 1.5 % من صمغ الكزانتان مع 18.5 % ماء، أو 1 % من صمغ الكزانتان و 19 % ماء، وحفظه مجمداً مدة (90) يوماً في درجة حرارة (-18) م°.

الكلمات المفتاحية: *Xanthomonas campestris*، التخمير بالوسط السائل، مولاس الشوندر السكري،

مصل اللبن، البرغر البقري منخفض الدهن.

Abstract

This research aims to investigate locally isolates of *Xanthomonas campestris* bacteria. 60 bacterial strains were isolated from different plants (Cabbage, Cauliflower, Lettuce, Wheat) collected from 5 Syrian governorates (Damascus, Rural Damascus, Homs, Hama and Tartous); (32) isolates were identified as *Xanthomonas campestris* according to morphological and biochemical tests. Afterwards, PCR technique was used to confirm the *Xanthomonas* species by amplified two types of genes, the RpfB gene, and the ERIC gene within the DNA of isolated bacteria; this was through using a combination of appropriate primers, which resulted in six isolations belonging to *X.campestris* species.

The Submerged Fermentation (SmF) conditions of locally isolated *X.campestris* to increase the production efficiency of Xanthan gum via the Response Surface Methodology (RSM), was Optimized by two phases; the first phase investigated the effect of different carbon (sugar beet molasses, whey and sucrose) and nitrogen (ammonium nitrate, potassium nitrate; ammonium chloride, ammonium sulphate, and organic peptone) sources on the efficiency of the production of Xanthan gum; all were under the following fixed conditions of fermentation process: incubation temperature (32)°C ; fermentation time (60) hours; pH (7); mixing speed (250)rpm ; the results confirmed with statistically significance ($P \leq 0.05$) that sugar beet molasses outweighs the rest of sources as source of Carbon, producing (11.43)g/l of Xanthan gum, while the second ranked source of carbon was Sucrose with a production rate of (10.98) g/l. While whey ranked last as source of carbon with average production of (10.98)g/l of xanthan gum. Meanwhile, Ammonium nitrate proved to be the best source of nitrogen, with an average production of (13.67) g/l of Xanthan gum; followed by organic peptone and potassium nitrates as sources of nitrogen ($P \leq 0.05$), as the average production rate of Xanthan gum varied between (11.83 to 12.25) g/l. While, the second phase covered the optimization of fermentation conditions of Xanthan gum production by using different fermentation temperature (28, 30, 32, 34, 36)°C, fermentation time (36, 48, 60, 72, 90) hours, pH degree (5, 6, 7, 8, 9) and

mixing speed (150, 200, 250, 300, 400) rpm. After excluding the experiment factors with Xanthan gum yield of less than (7)g/l, it was found that the best treatment ($P \leq 0.05$) in production of xanthan gum was treatment (24), under the following conditions : incubation temperature (32)°C, fermentation time (90) hours, medium pH(7), mixing speed (250) rpm, and the use of both beet sugar molasses as a source of carbon and ammonium nitrate as a source of nitrogen, resulting in average production of (18.31)g/l of Xanthan gum.

Furthermore, the rheological characteristics of Xanthan gum examined to test the stability of Xanthan gum viscosity under different changes in temperature (25, 40, 60, 80)°C, and pH degree (3.5 , 5, 7, 9); as well as the used gum concentration (0.5, 1 and 1.5) %, as a result it was proven that xanthan gum viscosity was affected with statistical significance ($P \leq 0.05$) by the addition of different concentrations of Xanthan gum, it was affected as well by changing the added solutions temperatures. While the variation in the medium pH had no significant effects on the xanthan gum viscosity.

Locally produced Xanthan gum has been used in beef burger production, where studied the chemical, microbial, physical and sensory properties of low-fat beef burger (25, 20, 15 and 10)% which included different concentration of xanthan gum (0.5, 1, 1.5)%, which was added as fat substitute, in comparison with the traditional beef burger of 30% fat . Where the partial replacement of the fat with xanthan gum proved to maintain the stability of frozen beef burger mixtures, during various storage periods (30, 60 and 90) days, the results of the study concluded the possibility of preparing low-fat beef burger (10) %, by adding 70% of minced beef and (20) % of water/xanthan mix, combined of either (1.5) % xanthan gum with 18.5% water, or (1)% of xanthan gum with 19% water, while kept frozen for 90 days at a temperature of (-18)°C.

Key Words: *Xanthomonas campestris*, Submerged Fermentation, Beet Sugar Molasses, Whey, Low Fat Beef burger.

المقدمة

Introduction

1. المقدمة Introduction:

تُشكل الغرويات المائية Hydrocolloids جزءاً هاماً من المواد المضافة الأكثر استخداماً في قطاع الصناعات الغذائية، لما تمتاز به من خصائص وظيفية يُمكن الاستفادة منها في تحسين جودة المنتجات الغذائية، والمساهمة في إطالة فترة حفظ هذه المنتجات، ومع اتساع مجال البحث عن مصادر جديدة يُمكن الحصول منها على مواد مضافة طبيعية يُستعاض بها عن استخدام المواد والمركبات الكيميائية المُصنعة المضافة إلى المنتجات الغذائية، والاستفادة من المصادر الطبيعية المتاحة، بغرض مواكبة متطلبات المجتمع الجديدة التي تتجه نحو اتباع العادات الغذائية الصحية، وذلك بعد الارتفاع الكبير في معدلات السمنة والاصابة بأمراض القلب والسكري الناتجة عن الاستهلاك المتزايد للأطعمة الجاهزة، وبالأخص منها منتجات اللحوم، لما تحتويه من نسب مرتفعة من الدهون، إضافة إلى المواد المضافة الصناعية، التي أثبتت معظم الدراسات العلمية والصحية أثرها السلبي في صحة مستهلكيها.

يُعتبر صمغ الكزانتان Xanthan Gum من أكثر الغرويات المائية Hydrocolloids استخداماً في العالم، الذي أُدرج ضمن لائحة المواد المضافة المسموح باستخدامها خلال ستينات القرن الماضي، من قبل كل من إدارة الغذاء والدواء الأمريكية FDA والاتحاد الأوروبي EU، بعد منحه الرمز الخاص به وهو (E415)، وتحتل الدول الآسيوية المرتبة الأولى في إنتاج هذه المادة وبنسبة قد تصل إلى 40% من الإنتاج العالمي، يمتاز الكزانتان بإمكانية إضافته إلى المنتجات بكميات ضئيلة جداً مقارنة مع بقية المواد المضافة الأخرى، ويُضفي استخدامه مميزات تكنولوجية مرغوبة للمنتجات، ومن هذه الميزات إعطاء المحاليل المائية اللزوجة المطلوبة، ومنح القوام والثخانة المرغوبة في المنتجات والحفاظ عليها، دون أن يؤثر في نكهة وطعم المواد الغذائية التي يدخل في تركيبها، ونظراً لميزاته التصنيعية التي يتمتع بها فقد تعددت مجالات استخدامه ضمن التطبيقات الغذائية سواء في صلصات تتبيل السلطات الجاهزة Dressing Sauces، والخلطات المستخدمة في تغليف المنتجات المعدة للطبخ، أو في المنتجات والمشروبات المجمدة، إضافة إلى استخدام الكزانتان ضمن الأغذية الوظيفية Functional Foods كمنتجات الخبز الخالية من الغلوتين الخاصة بالأشخاص الذين يعانون من حساسية

تجاه بروتين الغلوتين، والمنتجات منخفضة السعرات الحرارية كالحلويات والألبان (اللبن الرائب والمثلجات) واللحوم، كبديل عن البيض والدسم ، إذ يحافظ صمغ الكزانتان على الخواص الحسية التي يُضيفها كل من الدهن والبيض للغذاء دون تأثير المنتج بغيابهما.

يُصنف صمغ الكزانتان من المضافات الغذائية التي تنتج من الأحياء الدقيقة، حيث تعتبر بكتيريا *Xanthomonas* التابعة لعائلة *Xanthomonadaceae* المنتج الأساسي لصمغ الكزانتان، وهي بكتيريا ممرضة للعديد من النباتات الهامة في العالم على العموم وفي سورية بالخصوص، ويمكن الاستفادة منها من خلال توظيفها عبر تطبيقات التقانة الحيوية في إنتاج صمغ الكزانتان بكميات كبيرة وضمن ظروف يتم التحكم بها، حيث تتركز جميع الأبحاث العلمية في الوقت الراهن حيال طريقة الإنتاج الحيوي لهذا الصمغ، وذلك عبر توظيف العديد من المخلفات الصناعية أو الزراعية (المتوفرة بكثرة في سورية والتي تتمتع برخص ثمنها) كركائز تستخدم في أوساط تنمية إنتاج صمغ الكزانتان، والعمل على تحسين مواصفات هذه الأوساط بما يحقق الإنتاج المرتفع والجودة العالية لهذا الصمغ وبأقل التكاليف الممكنة، وتوفير كافة الظروف المناسبة لنمو البكتريا المنتجة لصمغ الكزانتان، التي تعمل على تخمير مصادر الكربون المضافة إلى أوساط التخمر، وتحويل هذه المصادر إلى منتج نهائي هام، وهو عبارة عن السكريات المتعددة الخارجية والمتمثلة بصمغ الكزانتان.

مبررات وأهداف البحث

The Research Justifications & Objectives

2. مبررات وأهداف البحث :The Research Justifications & Objectives

2.1. مبررات البحث :The Research Justifications

شكلت المبررات التالية حافزاً لإجراء هذا البحث وهي:

- (1) الاستفادة من المخلفات الزراعية والصناعية الناتجة عن العمليات التصنيعية لمنتجات الألبان وتصنيع الشوندر السكري، بأسلوب علمي وغير ضار بالبيئة من خلال توظيف استخدامهما في مجال التقانة الحيوية.
- (2) إمكانية الارتقاء بإنتاج صمغ الكزانتان من المرحلة المخبرية إلى المرحلة التجارية للحد من عملية استيراده من الخارج، والاستفادة منه في بعض المنتجات الوظيفية المخصصة لشريحة من الأشخاص (حساسية اتجاه الغلوتين - ارتفاع نسبة الدهون في الدم) من خلال الاستعاضة به كبديلٍ عن المكونات التي تسبب الإزعاج والضرر للشريحة المستهدفة.
- (3) عدم وجود دراسات محلية تناولت آلية إنتاج صمغ الكزانتان من بكتيريا معزولة محلياً، وتوظيف بعض المخلفات الصناعية كركائز لإنتاج هذا الصمغ، واستخدامه كمادة مضافة في بعض المنتجات الغذائية ودراسة أثره في خصائصها الحسية.

2.2. أهداف البحث :The Research Objectives

- (1) التحري عن عزلات بكتيرية معزولة محلياً قادرة على إنتاج صمغ الكزانتان.
- (2) إعادة تدوير بعض المخلفات الزراعية والتقليل من أثرها الضار في البيئة، من خلال استخدامها كمصادر رخيصة الثمن للكربون ضمن عمليات إنتاج صمغ الكزانتان، والاستعاضة بها عن مصادر الكربون النقية مرتفعة الثمن.
- (3) تحديد الظروف المثلى (أمثلة) لإنتاج صمغ الكزانتان بكميات كبيرة واقتصادية، من خلال دراسة أثر كل من عوامل (درجة حرارة الحضانة - pH الوسط - مصدر الكربون - مصدر النتروجين - معدل التهوية وسرعة المزج - الفترة الزمنية لعملية التخمير) في معدل إنتاج هذا الصمغ.

4) فصل صمغ الكزانتان من بيئة التخمر، ودراسة بعض خصائصه الريولوجية تحت تأثير اختلاف درجة الحرارة وحموضة الوسط، والتأكد من درجة نقاوته.

5) إمكانية إنتاج البرغر البقري منخفض الدسم بإضافة تراكيز مختلفة من الكزانتان بغرض إعطاء منتج غذائي صحي.

6) دراسة التركيب الكيميائي والصفات الفيزيائية والحسية والمحتوى الميكروبي للبرغر البقري المضاف إليه نسب مختلفة من صمغ الكزانتان خلال التخزين المجمد بدرجة حرارة (- 18) م° ومدة (3) أشهر، لاختيار أفضل نسبة من صمغ الكزانتان التي يمكن إضافتها للمنتج الغذائي دون التأثير في صفاته وبما يضمن إرضاء ذوق المستهلكين وبأقل نسبة ممكنة من الدهون المضافة.

الدراسة المرجعية

Literature Review

3. الدراسة المرجعية The Literature Review :

3.1. الغرويات المائية Hydrocolloids :

تعتبر الغرويات المائية مجموعة غير متجانسة من المركبات البوليميرية طويلة السلسلة (السكريات والبروتينات)، ذات وزن جزئي مرتفع، وهي من المركبات الذوابة في الماء، وتعد من المكونات الأكثر استخداماً في قطاع الصناعات الغذائية، حيث تمتاز بقدرتها على العمل كمثخن للقوام، وتشكيل الهلام (الجيلاتين) في المحاليل المائية، وكعامل استحلاب، وكبديل عن الدهون في العديد من المنتجات، وإمكانية استخدامها كعامل من عوامل الترويق والتصفية (Clarifying agent)، إضافة إلى ذلك، تدخل استخداماتها التطبيقية في صناعة الأغلفة القابلة للأكل للعديد من المنتجات الغذائية كبديل عن الأغلفة الصناعية، وتلعب دور العامل المثبت للقوام في المنتجات المجمدة، التي تتعرض لعمليات التجميد والإذابة المتكررة (Freeze – Thaw) (Juan-Mei & Shao-Ping, 2016; Sikora & Kowalski, 2007; Trudso, 1991).

تتضمن الغرويات المائية Hydrocolloids مجموعة هامة من السكريات المتعددة Polysaccharides التي أوجدت لها تطبيقات واسعة في العديد من التطبيقات الصناعية، ومنها: الأقمشة، والورق، والتعدين، والسيراميك، وصناعة خلايا إنتاج الوقود، إضافة إلى الصناعات الغذائية، والتي تعد من أهم التطبيقات الصناعية التي تستخدم فيها الغرويات متعددة السكريات (Sikora & Kowalski, 2007).

تُصنف الغرويات المائية بشكل عام حسب المصدر الذي تنتج عنه، وطريقة العزل والاستخلاص، والوظيفة التي تستخدم من أجلها (Milani & Maleki, 2012; Trudso, 1991)، ويظهر الجدول (1) تصنيف أهم الغرويات المائية المستخدمة في الأغذية وفقاً للمصدر وطريقة الاستخلاص ووظيفتها.

جدول 1 تصنيف أهم الغرويات المائية المستخدمة في الأغذية

الوظيفة			طريقة العزل			المنشأ				Hydrocolloid
مثبت	مخزن	عامل تجلتن	استخلاص	إفرازات	طحن الأجزاء النباتية	الأحياء الدقيقة	الطحالب	نباتي	حيواني	
•	•	•	•					•		بكتين عالي الميثيل HM-pectin
		•	•					•		بكتين منخفض الميثيل LM-pectin
•	•	•	•				•			الكارجينين Carrageenan
•	•	•	•				•			الآغار Agar
	•	•	•					•		النشاء Starch
	•	•	•					•		النشاء المعدل Modified Starch
	•		•					•		السليلوز Cellulose
	•		•					•		كربوكسيل ميثيل السيليلوز CMC
•	•	•	•				•			الألجينات Alginate
•	•				•			•		صمغ الفوار Guar gum
•	•	•		•		•				صمغ الكزانثان Xanthan gum
•		•		•		•				صمغ الجيلان Gellan gum
	•				•			•		صمغ الخروب Locust bean gum (LBG)
		•	•						•	الجيلاتين Gelatin
•	•			•				•		الصمغ العربي Arabic gum
		•	•						•	بروتين المصل whey protein
		•	•					•		بروتين الصويا Soy protein

المصدر (Trudso, 1991) (Milani & Maleki, 2012)

تُظهر الغرويات المائية نمواً متزايداً في معدل استخدامها في أرجاء العالم، حيث يزداد معدل النمو حوالي 2 إلى 3% سنوياً، تختلف نسب استخدام الغرويات المائية فيما بينها، حيث يزداد استعمال البكتين منخفض الميثيل (LM- pectin) Low Methoxyl pectin و صمغ الكزانتان Xanthan gum بشكل متصاعد مقارنة مع بقية الغرويات المائية التي تتأرجح معدلات استعمالها ما بين الثبات والتقلب كالصمغ العربي و صمغ الخروب Locust bean gum (Sikora & Kowalski, 2007; Trudso, 1991)، ويُفسر النمو المتزايد في استعمال الغرويات المائية وتحديداً في المجال الغذائي، بالدراسات المكثفة من قبل العاملين في هذا المجال في سبيل تلبية متطلبات المستهلكين المتجددة، ورغبتهم في الحصول على منتجات غذائية ذات جودة عالية، بالإضافة إلى رفع قيمتها التغذوية وخفض محتواها من الدهن في آن واحد (Juan-Mei & Shao-Ping, 2016; Norton *et al.*, 1998).

3.2. السكريات المتعددة Polysaccharides:

تعرف السكريات المتعددة بأنها مركبات طبيعية غير سامة، قابلة للتحلل في الطبيعة، وتعد المكون الرئيسي في تركيب الجدر الخلوية، إضافة إلى أنها تدخل في العديد من العمليات الحيوية التي تجري ضمن الخلية، ومنها الاستجابة المناعية والالتصاق والعدوى ونقل الإشارات في النباتات (Kumar *et al.*, 2007; Sutherland, 2002)، وقد أثبتت الأبحاث المكثفة في مجال العلاج البديل بأن بعض النباتات والأحياء الدقيقة التي لها القدرة على إنتاج السكريات المتعددة، يُمكن استخدامها كمضادات للالتهاب أو كمواد مانعة لتشكل الأورام السرطانية نظراً لاحتوائها على هذه السكريات (Ramberg *et al.*, 2010)، وإلى جانب الاهتمام بالصعيد الطبي لهذه المركبات، تعتبر السكريات المتعددة من المواد التي تستعمل بكثرة في مجال الصناعات الغذائية والتجميلية وذلك لخصائصها الكيميائية وصفاتها الغروية، إذ يمكن استخدامها كنوع من مثخنات القوام ومثبتاته، وكعامل من عوامل الاستحلاب المستخدمة (Donot *et al.*, 2012; Nicolaus *et al.*, 2010).

تنقسم السكريات المتعددة بحسب أماكن تواجدها إلى ثلاثة أنواع (Delgado & Masuelli, 2019):

- **السكريات المتعددة داخلية التشكل (Intracellular Polysaccharides):** أو ما يدعى بالسكريات المخزنة (Storage Polysaccharides Food)، ومنها النشاء.
- **السكريات المتعددة الهيكلية (Structural Polysaccharides):** والتي تشكل جزءاً من مكونات الجدر الخلوية للكائنات الحية، ومنها السيللوز.
- **السكريات المتعددة خارجية التشكل (Extracellular Polysaccharides) أو (EPSs):** والتي تفرز من الجدر الخلوية لبعض الأحياء الدقيقة والنباتات، وتتنوع طرائق إنتاج هذا النوع من السكريات التي يمكن الحصول عليها إما عبر استخراج الكتلة الحيوية للطحالب وبعض الأنواع من النباتات، أو عن طريق عمليات التخمير التي تتم من قبل الأحياء الدقيقة (الميكروبية) لبعض مصادر الكربون، وتعتبر هذه الأخيرة من أفضل المصادر لإنتاج السكريات المتعددة من الناحية الاقتصادية، نظراً لسرعتها في الإنتاج وغازاته، مع إمكانية التحكم بظروف هذه العملية بشكل كامل، ودون استغراق فترة زمنية طويلة التي لا تتجاوز الأسبوع، وذلك مقارنة مع مثيلاتها من المصادر النباتية التي قد تتطلب فترة زمنية تتراوح ما بين 3-6/ أشهر لإنتاج كمية من السكريات المتعددة، وما يرافق عملية الإنتاج من صعوبة التحكم بشروطها، وخضوعها شبه التام للظروف البيئية المحيطة (Donot et al., 2012)، وتتميز السكريات المتعددة الميكروبية بشكل عام بأنها مركبات ذات وزن جزئي عالي، وتنبأين في تركيبها وقوامها، وتصنف على أساس ذلك إلى (Xie et al., 2016):
- **السكريات المتعددة المتجانسة Homopolysaccharides:** وهي عبارة عن بوليميرات تحتوي على نوع واحد من بقايا السكريات الأحادية Monosaccharide، ومثال عليها الديكستران Dextran.
- **السكريات المتعددة غير المتجانسة Heteropolysaccharides:** وهي عبارة عن بوليميرات تحتوي على أكثر من نوع من بقايا السكريات الأحادية Monosaccharide، ومثال عليها الكزانثان Xanthan.

يوجد العديد من الأجناس الهامة من الأحياء الدقيقة التي تستخدم لإنتاج السكريات المتعددة الخارجية EPSs بشكل صناعي وتجاري، ومنها *Xanthomonas*، و *Leuconostoc* و *Sphingomonas* و *Alcaligenes*، وهي بمعظمها من البكتيريا الممرضة للنباتات والإنسان (Palaniraj & Jayaraman, 2011)، وتعتبر السكريات المتعددة البكتيرية Polysaccharides Bacterial مصدراً للبوليمرات الحيوية الجديدة التي تمتاز بخصائص وظيفية متقدمة، إلى جانب المزايا الكيميائية والفيزيائية الأخرى المتجددة، وقد يعيب في بداية البحث عن هذه المصادر التكاليف المرتفعة التي تتطلبها عليها برامج الفحص لتحديد البوليمرات الجديدة، وارتفاع تكاليف الإنتاج، والوقت المطلوب للحصول على تصريح لاستخدام هذه البوليمرات بشكل آمن في الأطعمة (Morris, 2006).

3.3. صمغ الكزانتان Xanthan Gum:

3.3.1 اكتشاف صمغ الكزانتان Xanthan Gum Discovery:

يعتبر صمغ الكزانتان من أشهر الغرويات المائية Hydrocolloid، وهو من السكريات المتعددة البكتيرية (الميكروبية) Bacterial Polysaccharides الرئيسية المستخدمة على نطاق واسع في العديد من الصناعات، أُطلق اسم صمغ الكزانتان Xanthan gum على مركب السكريات المتعددة المتشكل خارج الخلية الذي تفرزه مجموعة واسعة من البكتيريا التابعة لجنس *Xanthomonas*، وبالأخص النوع *X. campestris* الذي يعتبر المصدر الرئيسي لإنتاج صمغ الكزانتان بشكل تجاري (Cadmus et al., 1976)، وقد أُجريت العديد من الدراسات العلمية التي تناولت إمكانية إنتاج صمغ الكزانتان من أنواع أخرى من بكتيريا *Xanthomonas*، منها *X. phaseoli* و *X. Juglandis*، وتعتبر السلالة النقية *X. campestris* ذات الرقم NRRL B-1459 من أولى السلالات النقية العائدة لجنس بكتيريا *Xanthomonas*، والتي اكتشفها العالم Walker من جامعة ويسكونسن، والمحفوظة ضمن مكتبة مختبر البحوث الإقليمي الشمالي Northern Regional Research Lab (NRRL) الخاصة بالسلالات النقية من الأحياء الدقيقة وذلك في العام 1953 (Garcia-Ochoa et al., 2000).

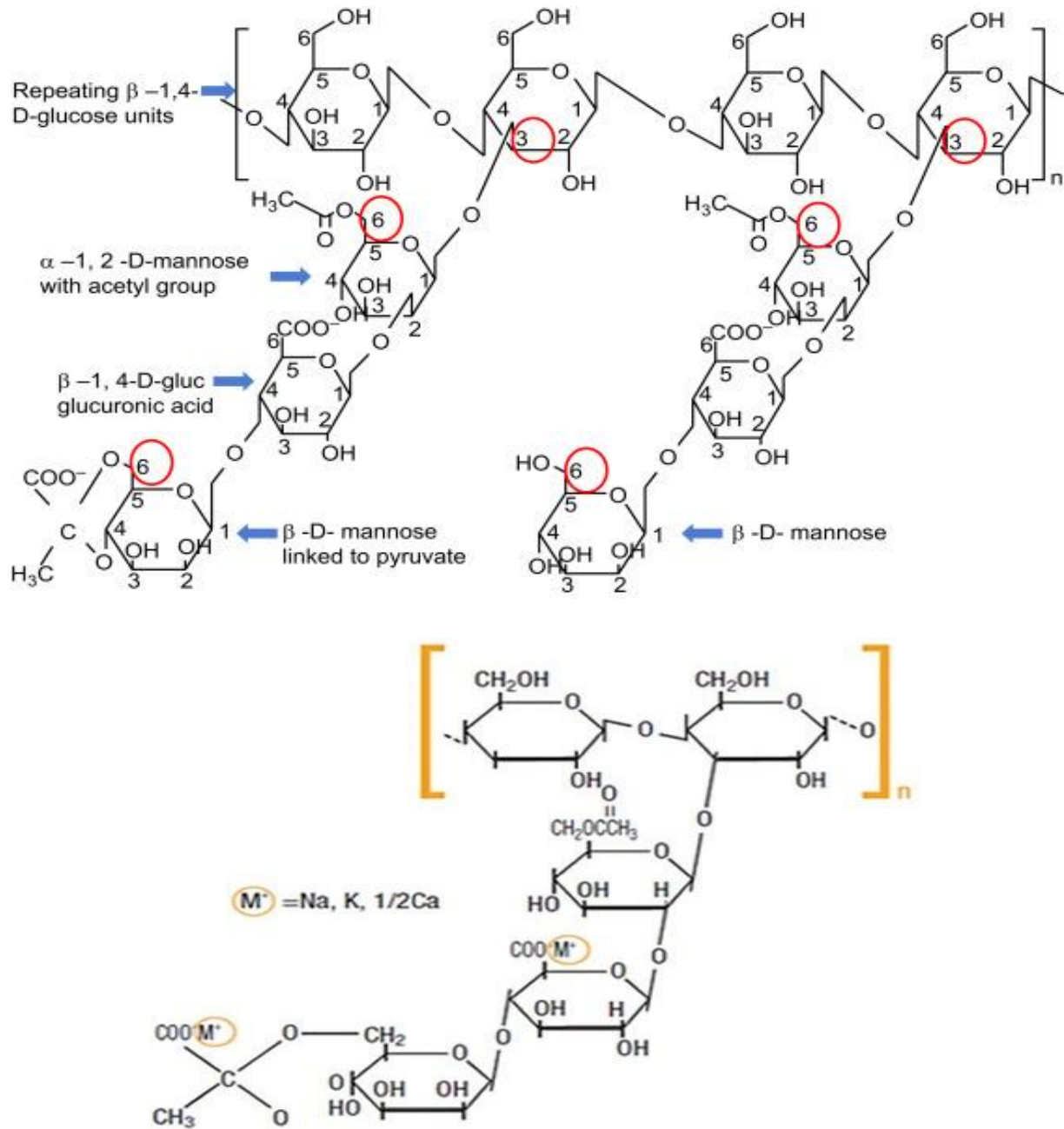
غُزل صمغ الكزانتان Xanthan لأول مرة في مختبر NRRL عام 1959، كجزء من برنامج وزارة الزراعة الأمريكية لتحديد السكريات الميكروبية الأصلية الجديدة التي يمكن إنتاجها باستخدام السكريات المستمدة من نشاء الحبوب كمصدر للكربون، وكانت Jeanes وزملاؤها أول من اكتشف وأبلغ عن الخصائص الوظيفية الجديدة والمثيرة للاهتمام لصمغ الكزانتان، وفي العام 1961 أُعتبرت شركة Kelco أولى الشركات التي تنتج صمغ الكزانتان بشكل تجاري، وبعد أن أُجريت اختبارات السمية الصارمة ودراسات السلامة على صمغ الكزانتان، حصل صمغ الكزانتان على موافقة إدارة الغذاء والدواء الأمريكية FDA لاستخدامه كمضاف غذائي في الولايات المتحدة عام 1969، وأُدرج في أوروبا ضمن قائمة المواد المضافة في العام 1974، حيث مُنح الرمز E415، دون تحديد أي كمية يمكن تناولها منه ضمن الجرعة اليومية المقبولة للإنسان Acceptable Daily Intake (ADI)، إضافة إلى ذلك مُنح رموزاً أخرى وفق التصنيفات الدولية المعتمدة للمواد الكيميائية ومنها CAS Number: 11138-66-2، INS 415، وEINECS No. 234-394-2 (USDA, 2016; Morris,) وفي العام 1994 أُنتجت أجسام مضادة antibodies للكشف عن وجود صمغ الكزانتان ضمن المنتجات الغذائية بغرض إجراءات اختبارات الحساسية الغذائية (Food allergy test) (Pazur et al., 1995).

ومن الأسماء الشائعة لصمغ الكزانتان: Xanthan، صمغ سكر الذرة Corn sugar gum، Gummi xanthanum و Gum xanthan، إضافة إلى الاسماء التجارية Keltrol®، Satiaxane®، وGRINDSTED® Xanthan، Ticaxan®، والعائدة لأسماء الشركات المنتجة لهذا الصمغ (USDA, 2016).

3.3.2 البنية الهيكلية لصمغ الكزانتان Xanthan Gum Structure:

يُسوق صمغ الكزانتان على شكل مسحوق (بودرة أو حبيبات) ذي لون أبيض يميل إلى الاصفرار قليلاً، عديم الرائحة، يتكون التركيب الكيميائي لهذا البوليمير $(C_{35}H_{49}O_{29})_n$ من هيكل أساسي يعتمد على خمسة وحدات متكررة من السكاكر، ويتكون الهيكل من العمود الفقري الذي يشبه في تكوينه السيلولوز من جزيئات سكر β -D-

الغلوكوز المرتبطة في المواقع 1-4 عددها ضمن الوحدة الواحدة وحدتين من الغلوكوز، يليها وحدتين من D-سكر المانوز، ووحدة من D-حمض الغلوكورنيك، وعليه تكون النسبة المولية لها هي 12:2، ويتفرع عن هذا العمود الفقري سلاسل فرعية من سكريات ثلاثية ومواد غير سكرية وهي: وحدتين من D-مانوز، يتخللها وحدة من D-حمض الغلوكورنيك، إضافة إلى وجود حمض البيروفيك ضمن السلاسل الفرعية، وتتواجد هذه السلاسل الفرعية إما بشكل حلزوني تنطوي حول الهيكل الأساسي أو تتفرد بشكل عشوائي حول الهيكل، وذلك حسب الظروف المحيطة بالصمغ، وترتبط العديد من مزايا صمغ الكزانتان بكيفية تموضع هذه السلاسل الفرعية ضمن جزئ الكزانتان، ويعتبر صمغ الكزانتان من البوليميرات الأيونية anionic ذات شحنة سالبة، وتعود طبيعة هذه الشحنة لوجود حمض الغلوكورنيك وبقايا حمض البيروفيك ضمن تركيب الصمغ، ويتراوح الوزن الجزيئي لصمغ الكزانتان ما بين 2×10^6 إلى 20×10^6 دالتون، ويعود الاختلاف في الوزن الجزيئي لظروف عملية إنتاجه (ظروف عملية التخثير) (USDA, 2016; De, J.Cano-Barrita & León-Martínez, 2016; Morris, 2000; Garcia-Ochoa et al., 2006)، ويبين الشكل (1) البنية الهيكلية لصمغ الكزانتان.



الشكل 1 البنية الهيكلية لصبغ الخزانتان (Chee & Nugent, 2019; Wang & Wang, 2013).

3.3.3 تصنيف بكتيريا *Xanthomonas*:

3.3.3. Taxonomy of the genus *Xanthomonas*:

تسبب معظم البكتيريا التابعة لجنس *Xanthomonas* بأمراضٍ للنباتات أو يترافق تواجدُها على سطح النبات مع بكتيريا أخرى ممرضة، وعلى الرغم من أنها تمتاز بمجموعتها المحدودة من العوائل، إلا أن أنواع هذا الجنس قادرة

على إصابة مجموعة واسعة من النباتات الاقتصادية والتي تقدر بحوالي 400 نباتاً، موزعة بين الأنواع النباتية أحادية الفلقة وثنائية الفلقة (Denardin & Agostini, 2013) (فضول وزملاؤه، 1998).

تتكون كلمة *Xanthomonas* من شقين وفق اللغة اللاتينية (اليونانية) وهما: *xanthos* وتعني الأصفر، و *monas* وتعني الوحدة أي الوحدة الصفراء، وتعود أولى التوصيفات لهذه البكتيريا كعامل ممرض لنباتات الفصيلة الصليبية إلى العام 1889، وذلك على يد العالم Harrison Garman في ولاية كنتاكي في الولايات المتحدة الأمريكية (Garman, 1890)، تلاها بعد ذلك العديد من الدراسات والأبحاث في مجال تصنيف هذه البكتيريا ومنها البحث الذي تم خلال العام 1921، الذي تناول موضوع انتشار مرض على نباتي البندورة والفليفلة وأُطلق على مسبب المرض آنذاك اسم البكتيريا الحويصلية *Bacterium vesicatorium* (Doidge, 1921)، أُعيد بعد ذلك تصنيفها من قبل العالم Dowson في العام 1939 وأُطلق عليها اسم *Xanthomonas* (Dowson, 1939)، ويعود السبب وراء تسمية بكتيريا *Xanthomonas* بالمستفطرة المرجية لطبيعة إفرازاتها التي تبدو على هيئة صبغة صفراء مخاطية القوام وذلك ضمن الخلايا النسيجية للنباتات المصابة بها وعلى أوساط تنمية هذه البكتيريا، وماهي هذه الصبغة إلا عبارة عن توليفة من الكاروتينات المرتبطة بالغشاء الخارجي للخلية البكتيرية يطلق عليها اسم *Xanthomonadine*، تعمل بوظيفة مركبات واقية للبكتيريا عبر حمايتها من أشعة الشمس وبالأخص U.V (Dejean, 2011).

تتصف بكتيريا *Xanthomonas* بأنها بكتيريا هوائية، سالبة الغرام، تتمثل أعراض المرض التي تظهر على النباتات لدى إصابتها ببكتيريا *Xanthomonas* بظهور تبغات صفراء على حواف الأوراق بشكل حرف v، إضافة إلى تبغات سوداء على جذور وساق وثمار النبات وذلك لنباتات الفصيلة الصليبية *Brassicaceae*، وينتج اللون الأسود بفعل انسداد الحزم الوعائية في النبات بسبب إفرازات البكتيريا المتمثلة بالسكريات المتعددة الخارجية ESPs (صمغ الكزانتان)، ويُطلق على هذه العوارض اسم مرض الجذر الأسود *Black rot*، إضافة إلى ارتباط العديد من الأمراض النباتية الأخرى بوجود بكتيريا *Xanthomonas* والتي تصيب كل من الخس والفول والفاصولياء والبندورة، وصولاً إلى الأرز وقصب السكر والحمضيات والقمح حيث يظهر على الأخير ما

يدعى بمرض التخطيط البكتيري Black Chaff أو Bacterial Leaf Streak (Dejean, 2011; Alvarez, 2000) (فضول وزملاؤه، 1998)، ولا تقف إصابة البكتيريا على الأجزاء الورقية للنبات فقط، بل تمتد الإصابة إلى الثمار والبذور مما يمكنها من البقاء ساكنة في التربة لفترات طويلة، ويلاحظ بأن الأجواء الدافئة والمعتدلة الرطوبة تساهم في ازدياد انتشار الإصابة بأمراض بكتيريا *Xanthomonas*، إذ تعتبر مياه الري والأمطار من العوامل الناقلة للمرض ما بين النباتات، لذلك تُولى العمليات الزراعية أهمية كبيرة في حماية المنتجات الزراعية من إصابتها ببكتيريا *Xanthomonas* (Vicente & Holub, 2013).

تُصنف بكتيريا *Xanthomonas* وفقاً للتصنيف العلمي العالمي المتبع للعديد من الأحياء الدقيقة إلى:

المملكة (kingdom): Bacteria، الشعبة (Phylum): Proteobacteria، الصف (Class): Gammaproteobacteria، الرتبة (Order): Xanthomonadales، العائلة (Family): Xanthomonadaceae، الجنس (Genus): *Xanthomonas*، الأنواع (Species): *X. campestris*، *X. phaseolis*، و *X. malvacearum*، و *X. citri*، و *X. oryzae*، و *X. Jugandlis* و *X. translucens* وغيرها من الأنواع الأخرى (Dejean, 2011; Saddler & Bradbury, 2005).

اكتسبت بكتيريا جنس *Xanthomonas* اهتماماً واسعاً من قبل العلماء والباحثين في أنحاء العالم لأمرين هامين، الأمر الأول يتعلق بقدرتها على إصابة مجموعة كبيرة من المحاصيل الاقتصادية، والضرر الذي يلحق بهذه المحاصيل بفعل الآفات الناتجة عن هذه البكتيريا، والأمر الثاني يتعلق بقدرة هذه البكتيريا على إنتاج صمغ الكزانتان المدرج ضمن لائحة أهم المواد المضافة المستخدمة في النطاقيين الغذائي والصناعي، وتعتبر بكتيريا جنس *Xanthomonas* من المسببات المرضية البكتيرية المسجلة للعديد من النباتات في سورية (الزعيبي وزملاؤه، 2016) (مندو وزملاؤه، 2012)، ومنها الجوز والقطن والفاصولياء والقمح والشعير ونباتات الفصيلة الصليبية Brassicaceae وبالأخص منها الملفوف الذي يعد من أهم المحاصيل الشتوية المزروعة في سورية

حيث بلغت إنتاجيته في العام 2017 حوالي 52500 طناً على مستوى سورية (وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، 2017).

3.3.4 إنتاج صمغ الكزانتان Xanthan Gum Production:

تدخل التقنية الحيوية (تقانة التخمرات) في مجال إنتاج صمغ الكزانتان، عبر استخدام ما يطلق عليه بمزارع التخمر، التي تتضمن نمو الأحياء الدقيقة النقية على مواد غذائية (ركائز) تحت ظروف هوائية، وذلك ضمن خزانات التخمر (Fermentation tanks)، حيث يُضاف لها المواد الغذائية الأساسية مثل المولاس أو مستخلص منقوع التمر ونخالة القمح وغيرها من المواد الغذائية الطبيعية أو الصناعية بغرض زيادة الكتلة الحيوية عبر تشجيع نمو الكائنات الحية الدقيقة، ونتيجة لعمليات الاستقلاب التي تقوم بها الكائنات الحية الدقيقة للمواد المغذية، تظهر وتتشكل في مزارع التخمر المنتجات الحيوية الهامة التي تتمثل في حال إنتاج صمغ الكزانتان بالسكريات المتعددة الخارجية ESPs (Subramaniyam & Vimala, 2012)، وتختلف آلية الإنتاج ومزارع التخمر المستخدمة حسب الكميات المراد الحصول عليها ونوعية المواد المغذية المتوفرة، حيث يلجأ لدى الإنتاج التجاري (الصناعي) الذي يتطلب إنتاج كميات كبيرة من نواتج عملية التخمر، إلى استخدام تقنية المفاعلات الحيوية Bioreactors التي من خلالها يتم التحكم بظروف التخمر، أما ضمن النطاق المخبري البحثي الذي يتطلب دراسة بعض العوامل وإنتاج كميات قليلة من المنتجات الحيوية (صمغ الكزانتان)، يتم اللجوء إلى تطبيق مزارع التخمر ضمن الدوارق الزجاجية المخبرية التي توضع ضمن الحاضنات الرجاجة Shaker Incubators التي يتم التحكم من خلالها بعدد من ظروف التخمر، وذلك في سبيل تحقيق الظروف المثلى لأعلى إنتاج من المنتجات الحيوية (El Enshasy *et al.*, 2011).

تنقسم تقنية مزارع التخمر إلى نوعين، النوع الأول ويعرف بمزارع التخمر المغمورة Submerged Fermentation (SmF) حيث يتم فيها زرع الكائنات الدقيقة في أوساط سائلة (المولاس)، وتناسب هذه الطريقة الأحياء الدقيقة التي تتطلب وجود نشاط مائي مرتفع a_w ، والنوع الثاني من مزارع التخمر هو مزارع التخمر بالحالة الصلبة Solid-State Fermentation (SSF) حيث تزرع فيها الكائنات الدقيقة على أسطح المواد

الغذائية الصلبة مثل المخلفات النباتية (النخالة، نفل التفاح)، مع ترطيبها بكميات قليلة من السوائل المنتقاة، وتستخدم هذه الطريقة للأحياء الدقيقة التي تحتاج إلى نشاط مائي منخفض a_w كالفطور مثلاً (Subramaniyam & Vimala, 2012)، إضافة إلى ذلك تختلف طرائق الزرع في المخمرات وفقاً لطريقة إضافة المواد المغذية (الركائز)، واعتماداً على مراحل النمو الخلوي للكائن الحي الموجود ضمن هذه المخمرات، وُشّرت هذه الطرائق من قبل كل من Yang و Sha (2020) وذلك وفق ما يلي:

1. المزرعة المغلقة على دفعات (Batch Fermentation Culture): تعتبر من أنظمة التتمية المغلقة،

مكونة من وسط يحوي حجم ثابت من بيئة التخمر، التي تُلقح بحجم معين من الكائن الحي (بكتيريا *Xanthomonas*) المراد الحصول على نواتجه الحيوية، ومن خلال نمو الكائن الحي ونشاطه يتم استهلاك المواد المغذية في بيئة التخمر تدريجياً، مقابل تشكل النواتج الحيوية، وفي نهاية عملية التخمر يتم سحب كل من المنتجات الحيوية والكتلة الحيوية، وعليه لا يُضاف خلال فترة التخمر أي كمية جديدة من العناصر الغذائية إلى وسط التخمر سوى الموجودة ضمن البيئة في بداية العملية، ولا يتم سحب أي ناتج من نواتج التخمر، وتُمر فيها الخلايا الحية بكافة مراحل النمو انتهاءً بمرحلة التماوت، وتعتبر هذه الطريقة مناسبة لأمثلة ظروف إنتاج أي ناتج حيوي في المراحل الأولى من إنتاجه.

2. المزرعة المغلقة المغذاة على دفعات (Fed-batch Fermentation Culture): تعتبر من أنظمة

التتمية شبه مفتوحة، وهي طريقة معدلة عن المزرعة المغلقة، تتضمن تلقح وسط التخمر بحجم ثابت من الكائن الحي وتترك عملية التخمر لفترة زمنية محددة، إلا أنه وخلال عملية التخمر، تُضاف كميات قليلة وذلك على دفعات من العناصر الغذائية إلى وسط النمو، وتحديدًا عند طور الثبات لنمو الخلايا، مع الإبقاء على الخلايا المعمرة للكائن الحي والمنتجات الناتجة عن التخمر ضمن وسط التخمر دون سحبها، لحين إيقاف عملية التخمر، وتستمر المزرعة في هذا النوع من المزارع لفترة أطول في مرحلة النشاط والطور اللوغاريتمي log phase، ثم تنتهي بمرحلة تماوت الكائن الحي، ويُمكن من خلال هذه الطريقة الحصول على تراكيز مرتفعة من المادة المنتجة بسبب الإضافة المتجددة من العناصر الغذائية إلى وسط التخمر.

3. المزرعة المستمرة (Continuous Fermentation Culture): وهي من أنظمة التتبع المفتوحة،

ويترافق فيها إضافة العناصر الغذائية بشكل متجدد إلى وسط التخمر مع حصاد وسحب منتجات التخمر والخلايا المعمرة من الوسط، بهدف ضمان استمرار نشاط المزرعة وإبقاء نشاط الكائن الحي ونموه ضمن طور اللوغاريتمي log phase لأطول فترة زمنية ممكنة دون الوصول إلى مرحلة التماوت، وتحتاج هذه الطريقة إلى المراقبة الدائمة لدى استخدامها نظراً لاستمرارية العمل في إضافة المواد وسحب النواتج من الوسط.

أجريت العديد من الدراسات في مجال إنتاج صمغ الكزانتان، وذلك بهدف تحسين تقنية إنتاجه وتخفيض تكاليف إنتاجه، حيث يُمكن إنتاج صمغ الكزانتان بطرائق مختلفة، إلا أن أكثرها شيوعاً وبشكل تجاري عمليات الإنتاج عبر التخمر بالغمر السائل SmF وذلك على دفعات (Morris, 2006)، ومن خلال دراسة قام بها Khosravi-Darani وزملائه (2011) للمقارنة ما بين كمية إنتاج صمغ الكزانتان عبر التخمر بالغمر السائل SmF وكمية الإنتاج عبر التخمر بالوسط الصلب SSF، وذلك باستخدام مخلفات التمر، فقد كان مردود إنتاج صمغ الكزانتان في وسط SmF أعلى حيث بلغ 22.4% مقارنة مع كمية 13.3% الناتجة عن وسط SSF، إضافة إلى ما سبق فإن إنتاج صمغ الكزانتان يتطلب استخدام أنواع مختلفة من المغذيات من ضمنها العناصر الغذائية الصغيرة Micronutrients مثل (أملاح البوتاسيوم والحديد والكالسيوم)، والعناصر الغذائية الكبيرة Macronutrients وأهمها مصدري النيتروجين (الأزوت) والكربون المتمثل بالسكريات النقية (السكرور والغلوكوز) ويعود للمصدر الأخير سبب ارتفاع تكاليف إنتاج صمغ الكزانتان، يُضاف إلى ذلك ما يقارب 50% من تكاليف إنتاج صمغ الكزانتان تكاليف عملية تنقيته بهدف التأكد من صلاحيته للاستخدام الغذائي، وعليه تسعى معظم هذه الدراسات إلى إيجاد آلية تحد من ارتفاع تكاليف إنتاج صمغ الكزانتان وتخفيضها من خلال اللجوء إلى توظيف استخدام بعض المخلفات الزراعية في عملية إنتاجه (Niknezhad et al., 2015)، ودراسة العوامل المؤثرة على الإنتاج سواء من درجة الحرارة التي تحدث ضمنها عملية التخمر بالشكل الأمثل، ودرجة حموضة الوسط (pH) التي تضمن استمرارية عملية التخمر، ومعدل التهوية وسرعة الخلط المناسبين لتوفير

الكمية المطلوبة من الأوكسجين التي تضمن نشاط الكائن الحي في وسط التخمر، وتساهم في امتزاج مكونات وسط التخمر مع بعض بشكل دائم، والفترة الزمنية المناسبة التي تحقق أعلى مردودية من إنتاج صمغ الكزانتان دون زيادة في تكاليف عملية الإنتاج.

3.3.4.1. المغذيات الرئيسية في إنتاج صمغ الكزانتان:

3.3.4.1. The substrates that used in the xanthan gum production:

3.3.4.1.1. مصادر الكربون Carbon Sources:

- **مولاس الشوندر السكري Sugar beet molasses**: يُعرف المولاس (كناتج ثانوي) بأنه الشراب الناتج عن صناعة السكر من الشوندر السكري وقصب السكر نتيجة لعملية فرز الكتلة المتبقية بعد بلورة جزيئات السكر، والتي تحوي في تركيبها السكروز ومواد لا سكرية، ويُميز هذا السائل لزوجته ولونه البني الداكن، وتقدر نسبة السكروز في هذا السائل كالحده الأدنى بـ 46% من تركيبه العام، إضافة إلى احتوائه على عناصر مغذية ومنها الأزوت والفوسفات والصوديوم والبوتاسيوم والمغنيزيوم والكالسيوم وبعض فيتامينات B (م.ق.س. 830، 1990)، ويُعد المولاس أرخص مصدر للكربوهيدرات، لذلك يُستخدم كمصدر للكربون والطاقة وللبعض المغذيات بغرض تنمية الأحياء الدقيقة خلال عمليات التخمر (Moosavi-Nasab et al., 2010).

يُعتبر الشوندر السكري من المحاصيل الزراعية الهامة والاستراتيجية بعد القمح في سورية، كونه يُشكل مصدراً هاماً لعدد من المنتجات ويأتي في المرتبة الأولى السكر الأبيض، إضافة إلى المولاس الذي يستخدم في إنتاج الخميرة الطرية، ويدخل في تركيب خلطات العلائق الحيوانية (الجبوي، 2013؛ طحلة و عز الدين، 2010).

تندرج ضمن الدراسات التي تطرقت إلى استخدام مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون في عمليات التخمر لإنتاج صمغ الكزانتان، دراسة أجراها كل من Ozdal و Kurbanoglu (2019) لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام كل من مولاس الشوندر السكري والبيبتون المستخرج من ريش الدجاج كركائز رخيصة الثمن ضمن نظام التخمر بالغمر السائل SmF، وكانت الكمية المنتجة من صمغ الكزانتان قد بلغت (20.5) غ/ل بعد

مرور 60 ساعة تخمير وباستخدام 4% من مولاس الشوندر السكري وعند درجة حرارة 30م، وسرعة الخلط 200 دورة/دقيقة.

- **مصل اللبن Whey**: يُعرف (كناتج ثانوي) بأنه السائل المنفصل عن الخثرة بعد تخثير الحليب أو القشدة أو الحليب الفرز أو زبدة الحليب عند صناعة الجبن والكازين أو أية منتجات مماثلة وذلك باستخدام أنزيمات وبإدئات (CXS 289-1995, 2018)، يتميز مصّل اللبن باحتوائه على نسبة جيدة من المواد المغذية وبالأخص البروتينات (0.8-1%) واللاكتوز (4-5%)، ويعود إلى هذا التركيب استخدامه في العديد من الصناعات الغذائية (الخبيز، أغذية الرياضيين، الأطفال، المتلجات...)، وكمصدر للكربون في أوساط إنتاج الحموض العضوية من بعض الأحياء الدقيقة، إلا أنه في الدول العربية ومن ضمنها سورية يعتبر مصّل اللبن من مخلفات عملية تصنيع الألبان والأجبان، التي لا يستفاد منها، ويتم التخلص منها عبر الصرف الصحي، وما يرافق ذلك من ضرر للبيئة نظراً لارتفاع احتياجات المصل من الأكسجين الكيميائي Chemical Oxygen Demand (COD) حتى يتحلل إلى المواد الأولية (إياس وزملاؤه، 2012) (Slavov, 2017). أُجريت دراسة للمقارنة في كميات صمغ الكزانتان الناتجة ما بين نوعي جنس *X.campestris* و *X.pelargonii* من خلال استخدام مصّل الجبن كمصدر للكربون في وسط التخمر، حيث كانت النتائج على التوالي (16.4) غ/ل و (12.8) غ/ل وذلك بعد 48 ساعة، وكان معدل إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام اللاكتوز كمصدر كربون (غ كزانتان / غ لاكتوز) (0.42) من *X.campestris* و (0.27) من *X.pelargonii* (Niknezhad et al., 2015).

3.3.4.1.2. مصادر النتروجين Nitrogen Source:

يتأثر كثيراً إنتاج صمغ الكزانتان بمكونات أوساط التخمر المستخدمة لإنتاجه، ومن هذه المكونات مكون هام وضروري وهو النتروجين الذي يحتل المرتبة الثانية في الأهمية بعد مصادر الكربون في تقانة التخمرات، حيث يساهم في نشاط الخلايا البكتيرية من خلال توفير الأحماض الأمينية، كذلك يعتبر محفزاً للعديد من التفاعلات الحيوية التي تتم بوجوده (قاسم وزملاؤه، 2005)، ويستخدم النتروجين بكافة أنواعه سواء بصورته المعدنية أو

العضوية، ولكل نوع من هذه الأنواع أهميته وفائدة إضافته إلى وسط التخمر، ويعتبر البيبتون من المصادر المستخدمة لتأمين النتروجين العضوي، بينما تعد أملاح الأمونيوم من المصادر المستخدمة لتوفير النتروجين المعدني ومنها نترات الأمونيوم NH_4NO_3 ، وكبريتات الأمونيوم $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ، وكلوريدات الأمونيوم NH_4Cl_2 ، ونترات البوتاسيوم KNO_3 (Honma et al., 1994).

وفي دراسة أجراها Woiciechowski وزملاؤه (2004) لإنتاج صمغ الكزانتان من تفل نبات Cassava كمصدر للكربون باستخدام مصادر مختلفة من النتروجين والتي تضمنت كل من مستخلص الخميرة والبيبتون ونترات البوتاسيوم وكبريتات الأمونيوم، بينت النتائج بأن أفضل إنتاج لصمغ الكزانتان قد بلغ (19.8) غ/ل باستخدام نترات البوتاسيوم، بينما انخفض الإنتاج لأدنى معدلاته مع استخدام كبريتات الأمونيوم كمصدر للنتروجين.

3.3.4.2. العوامل المؤثرة في إنتاج صمغ الكزانتان:

3.3.4.2. Factors affecting the xanthan production:

تخضع تقانة التخمرات للعديد من العوامل المؤثرة في سير عملية إنتاج المنتجات الحيوية، وينطبق ذلك في إنتاج صمغ الكزانتان حيث يرتبط إنتاجه والكمية المنتجة منه وخصائص الصمغ بالعوامل المطبقة خلال عملية التخمر، ويسعى العاملون في هذا المجال إلى إحكام السيطرة على هذه العوامل والتحكم بها بشكل مسبق، واختيار أفضل الشروط المناسبة لتطبيق هذه العوامل بغرض أمثلة الإنتاج الحيوي، في سبيل تحقيق المردود الاقتصادي وبأقل التكاليف الممكنة من إنتاج صمغ الكزانتان، ومن العوامل المؤثرة في عملية إنتاج صمغ الكزانتان:

1) درجة حرارة وسط التخمر The fermentation temperature: تعتبر من أهم العوامل التي يجب

العناية بها من خلال انتقاء درجة الحرارة المثلى لنمو ونشاط بكتيريا *Xanthomonas*، والتي تناسب أيضاً إنتاج صمغ الكزانتان بأعلى مردود، إذ يؤدي انخفاض درجة الحرارة عن الحدود المقبولة إلى خفض نشاط البكتيريا، كما أن ارتفاع درجة الحرارة عن الحدود المثالية يؤدي إلى موت الخلايا الحيوية وبالتالي الإسراع

في إنهاء مرحلة التخمير قبل أوانها، ويعد مجال درجة الحرارة المثالي لنشاط بكتيريا *Xanthomonas* وإنتاج صمغ الكزانتان ما بين (25-35) م°، ويعتبر انتقاء درجة الحرارة المثلى مرتبطاً أيضاً بنوع وسط التخمير المستخدم (Palaniraj & Jayaraman, 2011).

أُجريت دراسة من قبل Mudoi وزملائه (2013) لمعرفة مدى أثر العديد من العوامل ومنها تغير درجة حرارة الحضان على نمو بكتيريا *Xanthomonas* وإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مخلفات مولاس قصب السكر، إذ تبين بأن أفضل إنتاج لصمغ الكزانتان كان عند درجة حرارة (28) م° حيث بلغ حوالي (7 غ/ل)، بينما انخفض إلى ما يقارب (3.8) غ/ل مع ارتفاع درجة الحرارة ما بين (32-45) م°.

(2) **درجة حموضة وسط التخمير The fermentation pH**: تعد نقطة التعادل الكهربائي والتي تمثل درجة pH (7) من أفضل الدرجات التي تناسب نمو بكتيريا *Xanthomonas*، وخلال عملية إنتاج صمغ الكزانتان تختلف درجة pH وسط التخمير عن درجة pH في بداية عملية التخمير، ويُفسر ذلك بسبب تشكل الوظيفة الحامضية في التركيب الكيميائي لصمغ الكزانتان، إضافة إلى نواتج عملية البناء والهضم التي تتم ضمن وسط التخمير (Palaniraj & Jayaraman, 2011).

أظهرت الدراسة المقامة من قبل Mudoi وزملائه لمعرفة مدى أثر العديد من العوامل ومنها تغير درجة pH وسط التخمير على إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مخلفات مولاس قصب السكر، تأثر إنتاج صمغ الكزانتان بتغير درجة pH الوسط، إذ كانت أفضل معدلات إنتاج لصمغ الكزانتان لدى درجة pH المتعادلة والتي تساوي (7) حيث بلغت الكمية المنتجة ما يقارب (7.2) غ/ل، وكانت الكميات المنتجة من صمغ الكزانتان في درجات pH القريبة من الوسط القلوي (9، 12) والبالغة حوالي (4، 3.5) غ/ل (على التوالي) أفضل من الكميات المنتجة في الوسط الحامضي pH (2، 5) والتي انخفضت إلى ما دون (2) غ/ل.

(3) **الفترة الزمنية لعملية التخمير The fermentation time**: تعد الفترة الزمنية من محددات الجدوى الاقتصادية لعملية إنتاج صمغ الكزانتان، ومن العوامل التي يجب مراعاتها بشكل دقيق، إن زيادة فترة التخمير دون أن يرافقها زيادة في الكمية المنتجة من صمغ الكزانتان تُشكل زيادة في النفقات، واختصار فترة

التخمير دون أن يكون هنالك إنتاج في صمغ الكزانتان، وتعتبر إضاعة لفرصة الحصول على كميات جيدة من صمغ الكزانتان (Ashour et al., 2000).

ويندرج ضمن الأبحاث المنفذة لمعرفة أثر عامل الفترة الزمنية لعملية التخمير في إنتاج صمغ الكزانتان، دراسة قام بها Moosavi-Nasab وزملائه (2010) على دراسة أثر فترات زمنية مختلفة لعملية التخمير تراوحت ما بين (24) ساعة و(120) ساعة في إنتاج صمغ الكزانتان، إذ تبين بأنه مع زيادة الوقت ازداد معدل إنتاج صمغ الكزانتان من (0.29) غ/100مل إلى (1.066) غ/100مل وذلك في اليوم الرابع مع عملية التخمير أي بعد (96) سا، بعدها انخفض معدل إنتاج صمغ الكزانتان إلى مايقارب (1) غ/100مل وذلك في اليوم الخامس أي بعد مرور (120) سا.

(4) سرعة الخلط The mixing speed: تؤدي عملية الخلط إلى تحريك الوسط وتعزيز انتقال المغذيات والأكسجين إلى داخل الخلايا البكتيرية وتحفيزها على إنتاج صمغ الكزانتان من خلال زيادة كفاءة استخدام الكربوهيدرات، وإزالة المركبات السامة الناتجة عن النشاط الحيوي للبكتيريا (Moshaf et al., 2014). ومن ضمن الأبحاث التي تطرقت إلى ذلك، البحث العلمي المنفذ من قبل Moshaf وزملائه (2014) الذي سلط الضوء على أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان وأثر سرعات الخلط المختلفة ضمن ظروف عملية التخمير في إنتاج بكتيريا *X.campestris* من صمغ الكزانتان، ومن خلال تنفيذ ثلاث معدلات مختلفة من الخلط التي كانت (200، 300، 400) دورة/ دقيقة، فقد لوحظ إزدياد مردود إنتاجية صمغ الكزانتان مع زيادة سرعة الخلط وكان أفضل إنتاج من بكتيريا *X.campestris* قد بلغ (6.9) غ/ل بعد تطبيق ظروف عملية التخمير ضمن درجة pH تعادل 7 ودرجة حرارة 30م ومدة (72) سا، وسرعة الخلط تصل إلى 400 دورة/د، في حين لم يزيد معدل إنتاج الكزانتان (2.8) غ/ل لدى سرعة الخلط 200 دورة/د.

3.3.5 استخدامات صمغ الكزانتان وخصائصه Xanthan Gum Uses & Properties:

يتمتع صمغ الكزانتان بتنوع مجالات استعماله على النطاق التجاري سواء في المجالات الصناعية كمجال استخراج المشتقات النفطية، حيث يساهم في السيطرة على تدفق الماء واستقرار المعلقات تحت الظروف

الاستثنائية الصعبة التي ترافق عمليات استخراج النفط من درجات الحرارة المرتفعة وارتفاع تركيز الأملاح ضمن التربة (Veiga de Moura & Moreno, 2019; Ramalingam *et al.*, 2014)، ومجال البناء واستخدامه ضمن الخلائط المضافة لترطيب الاسمنت البورتلندي (Vazquez & Pique, 2016)، والمجالات الصيدلانية ومستحضرات العناية الشخصية، إضافة إلى المجال الأهم وهو الصناعات الغذائية (المخبوزات، منتجات الألبان، اللحوم.....) إذ يستخدم صمغ الكزانتان ضمن هذا النطاق بشكل واسع لخصائصه الريولوجية التي تُضفي على المنتجات الغذائية الصفات التصنيعية المرغوبة (Garcia-Ochoa *et al.*, 2000; Transparency Market Research, 2019).

يُستخدم صمغ الكزانتان كعامل مثخن Thickening agent للأوساط التي يُضاف لها نظراً للزوجته المرتفعة، وحتى وإن تمت إضافته بتركيز منخفضة، ويعتبر صمغ الكزانتان من الصمغ التي تُشكل محاليل ذات خصائص بلاستيكية كاذبة Pseudo-Plasticity fluids، حيث تظهر انخفاضاً في اللزوجة مع زيادة معدل القص Shear rate المطبق على هذه المحاليل، وتعود اللزوجة من جديد إلى حالتها الطبيعية (فعل عكوس) وترتفع مع زوال قوى القص المطبقة على هذه المحاليل الحاوية على صمغ الكزانتان، وتزداد لزوجة محاليل صمغ الكزانتان مع ازدياد محتواه من روابط الاستيل وحمض البيروفيك (Murad *e al.*, 2019; Veiga de Moura & Moreno, 2019)، ونظراً لقابليته الكبيرة في الذوبان في الماء فإنه يستخدم كعامل مثبت Stabilizer إضافة إلى أنه يعد عاملاً من عوامل الاستحلاب Emulsifying agents التي تعمل على الربط ما بين الجزيئات المحبة للماء والجزيئات الكارهة للماء والمحافظة على قوام المنتجات الغذائية دون حدوث ظاهرة الانفصال إلى طبقات، ولهذه الغاية يُستعاض به في العديد من المنتجات كبديل عن الدهون والبيض التي تضاف لتحقيق هذه الغاية مثل منتجات الألبان والأجبان والحلويات والصلصات (Murad *e al.*, 2019)، إلا أن خصائص صمغ الكزانتان وبالأخص لزوجته تتأثر وبشكل كبير بدرجة حرارة الوسط ودرجة حموضة الوسط وتركيز الأملاح الموجودة (Veiga de Moura & Moreno, 2019)، وتعتبر هذه الأمور من النقاط الحرجة في جميع الصناعات وبالأخص الغذائية منها، وعليه تناولت العديد من الدراسات العلمية الظروف المناسبة التي

يجب مراعاتها لدى التعامل مع صمغ الكزانتان، ومنها البحث العلمي المقام من قبل Gumus وزملاؤه (2010) حيث تم التطرق إلى دراسة أثر كل من عامل تغير درجة الحرارة ما بين (25-80) م°، وعامل pH الوسط في لزوجة محاليل مائية من صمغ الكزانتان بتركيز مختلفة (0.25، 0.5، 1) %، حيث أظهرت الدراسة بأنه لدى ارتفاع درجة الحرارة تنخفض لزوجة محاليل صمغ الكزانتان باختلاف درجات pH، وتعود لزوجة المحاليل المائية لطبيعتها مع انخفاض درجة حرارة الوسط مما يثبت بأنها صفة عكوسة، كما أنه مع ازدياد تركيز صمغ الكزانتان المضاف في المحاليل ازدادت لزوجة المحاليل المائية بشكل معنوي، أما تغيير درجة pH الوسط لم يكن لها أي أثر معنوي يُذكر على لزوجة هذه المحاليل، وينصح العاملون في مجال الصناعات الغذائية بأن أفضل التراكيز المضافة من صمغ الكزانتان كانت ما بين 0.05-0.5% وتحتسب على أساس وزن المنتج الغذائي المضاف له الصمغ (USDA, 2016)، ويظهر الجدول (2) الخصائص التي يُستخدم من أجلها صمغ الكزانتان في المنتجات الغذائية.

جدول 2 أنواع المنتجات الغذائية التي يدخل في إنتاجها صمغ الكزانتان

المنتج الغذائي	النسب المستخدمة %	الغاية من إضافة صمغ الكزانتان (الوظيفة)	المصدر
صلصة السلطة Salad dressing	0.1-0.5	يؤمن قوام سهل الانسياب، ومثبت للمستحلب، ويُعطي القوام المطلوب، ويُحسن من المذاق، يُستعاض به جزئياً عن وجود النشاء والدهون في المنتجات منخفضة السعرات الحرارية.	Sharma et al.,) 2006; Palaniraj & Jayaraman, 2011; Garcia-Ochoa et al., 2000
المخبوزات Bakery products	0.05-0.3	يعمل على الاحتفاظ بالمحتوى المائي للمنتج خلال عملية الخبز والحفظ، ويُطيل من فترة صلاحية المنتج، يُحسن من القوام، وبديل عن البيض، وبديل للدسم في المنتجات منخفضة السعرات الحرارية.	Sharma et al.,) (FDA, (2006; 2010)
المشروبات Beverages	0.05-0.2	يُعزز من الشعور بالمذاق (mouth feel)، ويُشكل معلق من لب الفواكه، ويحافظ على قوام هذه المعلقات	Garcia-Ochoa et) al., 2000; Palaniraj & Jayaraman, (2011
المساحق الجافة Dry mixes		يؤمن قوام غني، وعامل إذابة للمسحوق في الماء البارد والدافئ، ويُحسن من لزوجة المساحيق بشكل سريع وبالأخص المعاد تكوينها.	
الأطعمة المجمدة Frozen food	0.3-1	يحافظ على صفات المواد واستقرارها خلال فترة التجميد والإذابة، ويؤخر من تُشكل ونمو البلورات الثلجية أو السكرية خلال فترة التجميد	Garcia-Ochoa et) al., 2000; Kuppuswami, (2014
الشرابات وصلصات التزيين Syrups & Toppings	0.1-0.3	يُزيد من لزوجة وثخانة ونعومية هذه المنتجات، ويُحسن من استقرارها خلال عمليات التجميد والإذابة.	(Palaniraj & Jayaraman, 2011) (Garcia-Ochoa, et al., 2000)
الشوربات والصلصات Soups & Sauces	0.05-0.5	يؤمن الاستقرار للقوام خلال تغيرات درجة الحرارة، ويمنع من حدوث ظاهرة انفصال المكونات	(Palaniraj & Jayaraman, 2011)
الأطعمة الجاهزة Prepared foods	0.1-0.3	عامل مثبت للمستحلبات والمعلقات، ومانع للانسياب (ظاهرة انفصال السوائل من الهلام)	Sharma et al.,) (2006
منتجات الألبان Dairy products	0.05-0.2	يمنع ظاهرة الانسياب، مثبت للمستحلبات، ويُحسن من مقاومة القوام، وعنصر تحكم للزوجة، ويوفر الطعم والقوام المرغوب في المنتجات منخفضة السعرات الحرارية	FDA, 2010;) Sharma et al., 2006; Garcia- Ochoa et al., (2000
منتجات الخبز الخالية من الغلوتين Gluten-free breads	0.35-1	يُضفي المرونة المطلوبة في منتجات الخبز بديلاً عن الغلوتين، ويساهم في إعطاء الفتات الجيد للقوام	(Hagar & Arendt, 2013)
منتجات اللحوم Meat products	0.2-0.5	عامل ربط للماء، ويمنع حدوث ظاهرة الانسياب، ويؤمن للزوجة المناسبة للتبيلات.	(Palaniraj & Jayaraman, 2011; Lamkey, 2009)

(المصدر (USDA, 2016)

إنه من المتوقع بأن يزداد معدل الطلب عليه ونمو مبيعاته نحو 5-6% سنوياً وذلك خلال الأعوام 2019 و2027، مع الإشارة إلى أن مبيعات صمغ الكزانتان قد بلغت في العام 2018 حوالي 200 ألف طن على مستوى العالم مقارنة مع العام 2002 حيث بلغت المبيعات حوالي 20 ألف طن في حينها، وتُشكل حصة سوق منطقة الدول الآسيوية والمطلة على المحيط الهادي APAC ما يزيد عن الثلث من حصة السوق العالمية لصمغ الكزانتان وذلك خلال العام 2018، وتأتي بعدها كل من الأسواق الأوروبية وأسواق أمريكا الشمالية لتشكلاً معاً ما يقارب نصف حصة السوق العالمية، وتمتاز هذه الأسواق بتواجد الشركات الرائدة المصنعة له (Transparency Market Research, 2019; Sutherland, 2002).

3.4. الأطعمة منخفضة السعرات الحرارية The Low Calories Foods:

3.4.1 لمحة تاريخية عن الأطعمة منخفضة السعرات الحرارية:

3.4.1. The Low-Calories Foods History:

لاقت الصناعات الغذائية نمواً متسارعاً خلال النصف الأول من القرن العشرين، الذي انعكس في زيادة كميات الأطعمة الجاهزة والمعبأة المعروضة في الأسواق، حيث أصبحت متاحة لكافة شرائح المجتمع، بعد أن كانت تُعد وتُرسل فقط إلى الجنود خلال الحرب العالمية الثانية في سبيل توفير أطعمة جاهزة سهلة التناول من قبلهم، وترافق تطور صناعة الأطعمة الجاهزة مع ظهور الإعلانات التلفزيونية التي ركزت في ذلك الوقت على الأطعمة المعالجة وجذب انتباه شريحة أوسع من المستهلكين لهذه المنتجات، وبالأخص مع افتتاح سلسلة المطاعم الجاهزة Fast food في بداية الخمسينات من القرن الماضي، التي شجعت على تناول هذه الأطعمة بشكل أكبر حتى أصبح على أثرها البرغر والبطاطا المقلية الوجبة السريعة المثالية، تلتها بقية الأطعمة الجاهزة كالبيتزا والدجاج المقلي، ومع تطور أسلوب الحياة الذي تسبب في خفض النشاط البدني للإنسان، واعتماده في النظام الغذائي على الأطعمة الجاهزة التي تتميز بارتفاع محتواها من الدهون والسعرات الحرارية، فقد ازدادت معدلات الإصابة بأمراض القلب والسكري، وارتفع نسب السمنة بين كافة فئات المجتمع وبالأخص فئتي المراهقين والشباب، حيث أظهرت العديد من الدراسات في مجال التغذية وجود علاقة وطيدة ما بين ارتفاع نسب الدهون والكوليسترول في

الدم لدى المرضى وازدياد نسبة استهلاكهم للأطعمة الجاهزة ذات المحتوى الدهني المرتفع (Reedy, 2016; Nabors & Lemieux, 1993)، ونتيجة لذلك اتجهت كافة الأنظار وبالأخص الجهات الطبية والتغذوية إلى نشر النصائح الغذائية، وأهمها خفض المدخول اليومي من الدهون المتداولة في سبيل خفض معدلات الإصابة بالأمراض المرتبطة بهذا النظام الغذائي ذي المحتوى العالي من السعرات الحرارية، وفي العام 1973 أوصت وزارة الزراعة في الولايات المتحدة الأمريكية USDA بضرورة ذكر محتوى الأطعمة الجاهزة من الدسم والكوليسترول على بطاقة البيان لهذه الأطعمة، وتضم هذه الأطعمة أنواعاً مختلفة ويأتي في أولى قائمتها منتجات اللحوم التي تُشكل حوالي 17.5% من مصادر الأطعمة ذات المحتوى المرتفع من الدسم، والأجبان التي تُشكل نسبة 17.4% وبعدها الحليب ومنتجاته بنسبة 16.6% (Praagman et al., 2016)، دفع هذا الأمر إلى تسليط الضوء وضرورة إيجاد بدائل عن الدسم المضافة إلى الأطعمة والتي تعتبر مصدراً خفياً وهائلاً للسعرات الحرارية، حيث تعطي ضعف ما تعطيه الكربوهيدرات (9 سعرات حرارية مقابل 4 سعرات حرارية للغرام الواحد من الطعام)، حيث كانت هذه الخطوة الأولى التي دفعت بالصناعات الغذائية للبحث عن بدائل صحية يُمكن استخدامها بدلاً عن الدهون المشبعة في الأطعمة الجاهزة، مع المحافظة قدر الإمكان على صفات هذه الأطعمة المستساغة دون أي تغيير، ومن أهم هذه البدائل المستخدمة الصمغ أو الغرويات المائية (صمغ الكزانتان، صمغ الخروب...)، والنشاء، والسيللوز والبكتين التي كان الهدف من إضافتها تحقيق العديد من الصفات التي تتأثر بغياب الدسم ومنها الطعم الغني المستساغ ومنح الثباتية للقوام وبالأخص المستحلبات، ومنع حدوث ظاهرة انفصال أو انسياب مكونات المنتج (Reedy, 2016; Nabors & Lemieux, 1993)، وكان الاهتمام الأكبر خلال السنوات العشر الأخيرة يدور دوماً حول إيجاد طريقة تكنولوجية تعمل على خفض المحتوى من الدهون والسعرات الحرارية في النظام الغذائي اليومي إلى ما يقارب 100% بالنسبة للدسم و50% بالنسبة للسعرات الحرارية، ويعتبر البديل المثالي للدسم الذي يحقق هاتين الغايتين في آن واحد من خلال توفير الجوانب التصنيعية الجيدة المترافقة مع وجود الدسم وخفض السعرات الحرارية للمادة الغذائية، ونتيجة لذلك لاقى سوق بدائل الدهون رواجاً واسعاً نتيجة لازدياد معدلات إنتاج الأطعمة والمشروبات الجديدة التي تتمتع بمحتوى حروري

منخفض، وارتفاع معدل استهلاكها لهذه الأطعمة، فقد لوحظ من خلال المقارنة ما بين العام 1978 والعام 1991 في أمريكا، ارتفاع نسبة مستهلكي الأطعمة منخفضة الدسم من 22% إلى 67% (Nabors & Lemieux, 1993).

3.4.2 منتجات اللحوم The Meat Products:

تشكل منتجات اللحوم المكون الأساسي للأطعمة سريعة التحضير Fast food، والتي تقع ضمن قائمة الأطعمة الأكثر تناوُلًا في المجتمعات وبالأخص فئتي المراهقين والشباب (Ashdown-Franks et al., 2019)، وبلغ معدل استهلاك اللحوم في الدول المتقدمة (أمريكا، أوروبا وغيرها من الدول المتطورة) حوالي 58% من النظام الغذائي اليومي وذلك خلال عامي 2003-2004، منها 22% لحوماً مصنعة، ويُقدر استهلاك أمريكا لوحدها من اللحم البقري المفروم بحوالي مليون وأربعمئة طناً سنوياً منها حوالي 66% يدخل في صناعة الأطعمة الجاهزة (Park, 2011)، ونتيجة لاحتواء اللحوم على نسبة كبيرة من الدهون، فقد سعت العديد من الأبحاث إلى إيجاد طريقة لخفض هذه النسب، وعبر إجراء مقارنة ما بين الكتلة الحيوية للأبقار خلال الأعوام السابقة وكتلتها الحيوية خلال منتصف الثمانينات من القرن الماضي يُلاحظ انخفاض بنسبة 27% من هذه الكتلة، ويعود ذلك لاتباع مربّي المواشي أسلوباً للتربية التي تعتمد على خفض كتلة الدهون ورفع كتلة اللحم، إضافة إلى قيام البائعين بشكل روتيني إلى إزالة الدهون وفصلها عن اللحوم لدى إعدادها، وفي العام 1988 أصدرت وزارة الزراعة في الولايات المتحدة الأمريكية USDA أول تشريع صحي يسمح بصناعة اللحوم منخفضة الدسم باستخدام كميات من الماء المضاف، حيث كانت البداية مع خفض الدسم إلى نسبة تتراوح ما بين 29-30% مقابل إضافة 9-10% من الماء إلى منتج النقانق Frankfurt، ومع مرور الوقت انخفضت نسبة الدسم إلى 18-22% مقابل إضافة 16-19% من الماء، إضافة إلى ادخال بدائل الدهون ضمن هذه المنتجات التي تعوض النكهة التي قد تخسر لغياب الدسم، والحفاظ على القوام المرغوب لهذه المنتجات (Reedy, 2016; Nabors & Lemieux, 1993).

نُفذت العديد من الدراسات في مجال التطبيقات العلمية والصناعية لاستخدام صمغ الكزانتان في منتجات اللحوم لمعرفة التركيز المناسب الواجب إضافته من هذا الصمغ، ومنها بحث تناول إمكانية خفض نسب الدهن المضافة إلى منتج تقليدي من اللحم في الهند واستبداله بنسب معينة من صمغ الكزانتان (0.5-1-1.5) %، ودراسة أثر إضافة الكزانتان في صفات الجودة والثباتية اتجاه عملية الأكسدة لمنتج اللحم، مع الإشارة بأن المنتج التقليدي يحتوي كمية 20% من الدهن إلى جانب مكونات أخرى، ودراسة مدى إمكانية استبدال الدهن المضاف بنسب من صمغ الكزانتان دون التأثير في الخصائص الريولوجية للمنتج النهائي، وتوصلت نتائج الدراسة إلى أن التركيز المثالي لإضافة صمغ الكزانتان والذي حقق خصائص حسية جيدة وثباتية اتجاه عملية الأكسدة هو 0.5 % مقارنة مع منتج اللحم التقليدي الذي يحوي على 20% دهن (Rather et al., 2015)، وفي دراسة أخرى طُبقت لمعرفة مدى ثباتية خصائص جودة نقانق الدجاج منخفضة الدسم خلال فترة التخزين لمدة 50 يوماً بصورة مبردة، حيث سُككت خلطة من صدور الدجاج الطازجة مضافاً إليها نسب مختلفة من الدهن البقري (0-2-5) %، ونسب مختلفة من بروتينات مصل اللبن وصمغ الكزانتان وصمغ الغوار وأملاح الصوديوم، وعُرضت هذه الخلطات إلى معاملة حرارية بدرجة (74) م، ومن ثم بُردت وغلُفت بالضغط تحت التفريغ وحُفظت على درجة حرارة (4) م لمدة 50 يوماً، اظهرت كافة الخلطات ومن ضمنها الخلطة الخالية من الدهن البقري ثباتية جيدة خلال فترة الحفظ بالتبريد دون حدوث فقد كبير في الوزن والرطوبة وتمتعها بخصائص حسية (الرائحة- الطعم- اللون) جيدة ومقبولة بوجود كل من بروتينات المصل وصمغ الكزانتان والغوار (Andres et al., 2006).

أُجريت دراسة لمعرفة إمكانية إضافة صمغ الكزانتان إلى بعض منتجات اللحوم المقلية التي تغلف بخلطات مختلفة ومنها قطع الدجاج المقلية التي تُدعى بالناجيت Nuggets، وذلك بغرض التقليل من كمية الزيوت الممتصة من قبل هذه المنتجات المقلية بطريقة القلي العميق، والمحافظة على خواصها الحسية بالشكل المطلوب، مقارنة مع إضافة مادة دقيق القمح لوحده، وخُلصت الدراسة إلى أن إضافة صمغ الكزانتان ساهمت بشكل إيجابي في الحفاظ على الخواص الحسية لقطع ناجيت الدجاج المقلي، وخفضت كمية الزيت الممتصة من المنتج خلال عملية القلي العميقة، وما نتج عن ذلك من خفض للسعرات الحرارية لمنتج الدجاج (Sahin et al., 2005).

3.4.3 البرغر البقري Beef burger:

يعتبر البرغر أو الهمبرغر من الأطعمة السريعة والتي يتم تداولها بكميات كبيرة جداً على النطاق العالمي، والتي تتمتع بارتفاع محتواها من الدهون (Reedy, 2016)، ويُعرف البرغر وفقاً للمواصفة القياسية السورية رقم 2836/2003 (م.ق.س. 2836، 2003) بأنه:

منتج غذائي محفوظ في صورة مبردة أو مجمدة، يُحضر بفرم اللحم المبرد أو المجمد الخالي من العظم للبقر أو الجاموس أو الماعز أو الضأن أو الابل أو الدواجن، مضافاً إليه التوابل، وقد تضاف إليه المواد الرابطة أو المائلة والمحسّنة الطبيعية والمواد الحافظة المسموح بها، والمعدة على هيئة وحدات متماثلة في الحجم والسماكة، ووفقاً للمواصفة القياسية السورية رقم 2836 للعام 2003، يُصنف الهمبرغر على أساس محتواه من الدهن إلى:

1- منتج منخفض الدهن بنسبة تصل حتى 15%.

2- منتج متوسط الدهن بنسبة أكبر من 15 حتى 24%.

3- منتج عالي الدهن أكبر من 24 حتى 30%.

ويُظهر الجدول (3) الشروط الكيميائية للبرغر وفق المواصفة القياسية السورية رقم 2836 للعام 2003.

جدول 3 الشروط الكيميائية للبرغر وفق المواصفة القياسية السورية رقم 2836 للعام 2003.

الحدود %	الشروط الكيميائية
60% كحد أقصى	الرطوبة
15% كحد أدنى	البروتين
30% كحد أقصى	الدسم
70% كحد أدنى	اللحم
5% كحد أقصى	المواد النشوية (المائلة والرابطة)
2% كحد أقصى	الملح

يعد البرغر من الأطعمة السريعة ذات مصدر غذائي هام بسبب غناه بالبروتينات والأحماض الأمينية الأساسية، والمعادن وبالأخص الحديد، إلا أنه أيضاً مصدر غني بالدهون إذ الملاحظ بأنه قد يصل محتواه من الدهون إلى ما يقارب 30% من مكوناته والمسؤول عن الطعم المستساغ للبرغر، وتعتبر هذه النسبة مرتفعة جداً مقارنة مع التوصيات التي تنادي بها منظمات الصحة العالمية والتغذية حيال إمكانية تخفيض المدخول اليومي للإنسان من الدهون إلى ما يقارب 20% فقط، وعليه فإن تناول وجبة واحدة فقط من البرغر تؤمن حصيلة مدخول الجسم اليومي من الدهون تضاف لها حصة إضافية، مع الإشارة إلى أن نوعية الدهون التي تتواجد في البرغر من الدهون المشبعة التي تعمل على رفع نسب الكوليسترول والدهون الثلاثية في الجسم لدى متناوليها (Gehan, 2010, Kassem & Emara)، وضمن مسح بحثي Survey ضم 44 دولة من الدول متوسطة ومنخفضة الدخل لمعرفة معدل استهلاك فئة المراهقين فيها من الأطعمة الجاهزة على مدى أيام الأسبوع وخلال عام كامل، وكانت الجمهورية العربية السورية من ضمن الدول التي شملها المسح خلال العام 2010، حيث أظهرت نتائج المسح بأن معدل استهلاك الأطعمة الجاهزة من قبل فئة المراهقين في سورية قد بلغ حوالي 43% (كان الشرط بأن يكون قد تم تناول وجبة واحدة على الأقل ضمن الأسبوع)، وهذه النسبة تعتبر مرتفعة مقارنة مع بقية الدول (Ashdown-Franks *et al.*, 2019)، ويبلغ استهلاك الفرد في سورية سنوياً خلال العام من مادة اللحوم (الحمراء والدجاج) ما يقارب 20 كغ مقارنة مع الولايات المتحدة الأمريكية التي يبلغ معدل استهلاك الفرد اليومي حوالي 124 كغ سنوياً خلال العام 2000 (Speedy, 2003)، ومع توجه ما يقارب 75% من المستهلكين إلى خفض معدل استهلاكهم من الدهون ضمن نظامهم الغذائي اليومي والتركيز على الأنظمة التي تتميز بانخفاض محتواها من الدسم والسعرات الحرارية، فقد خضعت صناعة البرغر إلى العديد من التغييرات في سبيل خفض محتواها من الدهون، والاستعاضة بها بمكونات أخرى أفضل صحياً وذات سعرات حرارية منخفضة، مع الإقلال قدر الإمكان عن العيوب التي تنتج عن غياب الدهون في هذا المنتج، سواء أكانت هذه البدائل نباتية المصدر (طحين فول الصويا)، أو حيوانية المصدر (مصل الحليب)، وأخيراً الغرويات المائية وبالأخص الصمغ (النشاء، صمغ خروب، الكزانتان) وغيرها من البدائل الأخرى، على أن تكون هذه البدائل منخفضة التكلفة كون وجبة

البرغر من الوجبات المتناولة ضمن فئات المجتمع ذات الدخل المحدود (Gehan Kassem & Emara, 2010).

تطُرقت دراسات عديدة إلى إيجاد بدائل عن الدهون في البرغر البقري، منها دراسة قام بها كل من Yagoup وزملائه (2017) التي تضمنت إضافة خليط من نشاء الحبوب ومركز فول الصويا والحليب المجفف خال الدسم والزيت النباتي كبديل عن الدهن في البرغر البقري واجريت مقارنة لمعرفة أثر هذه الإضافات على التركيب الكيميائي والتغذوي للبرغر البقري وكانت النتيجة بأن البدائل المستخدمة استطاعت الحفاظ قدر الإمكان على الصفات الكيميائية للمنتج مقارنة مع البرغر التقليدي وإغناء محتواه التغذوي سواء بالبروتينات وبعض المعادن والتقليل من الدهون المشبعة الناتجة عن وجود الدهون واستبدالها بالدهون غير المشبعة المفيدة للجسم التي نتجت من إضافة الزيت النباتي لخليط البرغر، إضافة إلى دراسة أخرى قام بها كل من Troy وزملائه (1999) تناولت إنتاج برغر بقري يحتوي على (10%) فقط من الدسم وذلك بإعداد خلطات تتضمن إضافة كل من كارجينات وصمغ الخروب وبروتينات المصل كبديل عن الدسم في البرغر البقري، ودراسة أثر إضافتها في خصائص جودة منتج البرغر البقري من حيث مردود الطبخ والقدرة على الاحتفاظ بالماء ومقاومة الانكماش وغيرها من الصفات الحسية، حيث أظهرت النتائج بإمكانية إنتاج برغر بقري منخفض الدهن باستخدام بدائل الدهن دون التأثير في جودته.

تسعى تكنولوجيا اللحوم وصناعاتها إلى إيجاد أفضل الطرائق والسبل من أجل توفير منتجات اللحوم سهلة التحضير على مدار العام وبأفضل المواصفات وضمن القدرة الشرائية للجميع، وتُجرى العديد من الأبحاث ضمن مجال حفظ اللحوم بغية انتقاء طريقة الحفظ الأمثل التي تحافظ على صفات جودة المنتج دون أي تغيير أو ضمن الحدود الدنيا من التغييرات، سواء أكانت هذه الصفات التركيب الكيميائي أو الخصائص الفيزيائية التي تتعلق بمدى ثباتية المنتج اتجاه طرائق الطبخ التي تُجرى عليه، وتقليل الفقد الحاصل خلال عمليات الطبخ إلى أدنى المستويات، مع الحفاظ على المحتوى التغذوي والصفات الحسية التي تعتبر مفتاح جذب المستهلكين لشراء المنتج أو عدولهم عنه، مع التركيز على نقطة هامة ألا وهي سلامة المنتج الغذائي خلال فترة حفظه وتخزينه،

وبالأخص تعتبر منتجات اللحوم ومنها البرغر البقري من أهم المصادر لحدوث تسممات غذائية لمتناولها في حال لم تراعى الشروط الصحية لدى تداولها وإنتاجها (Marcenkova & Rucins, 2009).

مواد البحث وطرائق التحليل

Materials & Methods

4. مواد البحث وطرائق التحليل Materials and Methods:

أجريت مراحل البحث ضمن مخابر كل من وزارة التجارة الداخلية وحماية المستهلك (مديرية المخابر بالإدارة المركزية في دمشق)، وكلية الزراعة (قسم علوم الأغذية)، والهيئة العامة للتقانة الحيوية (قسم التقانات الحيوية الصناعية والغذائية)، إضافة إلى هيئة الطاقة الذرية وذلك خلال الفترة الممتدة ما بين الأعوام 2016 و2020. تبين الجداول (4)، و(5)، و(6) و(7) الأوساط والبيئات المستخدمة في التحاليل الجرثومية والحيوية الكيميائية، والمواد المستخدمة في تقنية البلمرة المتسلسلة PCR، والمواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات الكيميائية والتخمير، والمعدات والأجهزة المستخدمة في الاختبارات الكيميائية والجرثومية والعمليات التصنيعية.

جدول 4 الأوساط والبيئات المستخدمة في التحاليل الجرثومية والحيوية الكيميائية

الوسط أو البيئة	الغاية منه	الشركة الصانعة	بلد المنشأ
GYCA – Glucose/ Dextrose- yeast extract- Calcium carbonate Agar	بيئة انتقائية لبكتيريا <i>Xanthomonas</i>	Condalab	Spain
YPD- Yeast extract- Peptone- Dextrose- broth		Condalab	Spain
Oxidase Test Discs	اختبار الكشف عن الأوكسيداز	Condalab	Spain
SIM media	وسط كاشف عن H_2S	HIMEDIA	India
Christensen's urea Agar	وسط كاشف عن اليوريا	LIOFILCHEM	Italy
Tryptone Broth	اختبار كشف الأندول	HIMEDIA	India
Kovács Regent		Merck	Germany
MR-VP Medium (Glucose Phosphate Broth)	اختبار كشف الأسيتون	HIMEDIA	India
Voges-Proskauer Regent		Merck	Germany
Starch Agar	اختبار تحلأة النشاء	HIMEDIA	India
Nitrate Broth	اختبار إرجاع النترات	HIMEDIA	India
Buffered Peptone Water (BPW)	الوسط المستخدم في تمديد عينات الزرع	Condalab	Spain
Plant count agar (PCA)	البيئة المستخدمة للعد الكلي للأحياء الدقيقة	Fluka	Germany
Syslenite Cystine Broth	مرق الإكثار الخاص ببكتيريا <i>Salmonella</i>	Sifin	Germany
Baird Parker Agar (BP)	البيئة المستخدمة للكشف عن بكتيريا <i>Staphylococcus</i>	Condalab	Spain
Violet Red Bile Agar (VRBA)	البيئة المستخدمة للكشف عن بكتيريا الكوليفورم	HIMEDIA	India
Egg Yolk Telluride	إضافة متممة لبيئة B.P	SIGMA-ALDRICH	Germany
Salmonella- Shigella Agar (S-S)	البيئة المستخدمة للكشف عن بكتيريا <i>Salmonella</i>	Sifin	Germany
(TSB +N) Tryptic Soy Broth with novobiocin	وسط مرق إكثار وبيئة الكشف عن بكتيريا <i>E.coli</i> 0157:H7	Fluka	Germany
(CT-SMAC) Cefixime Tellurite Sorbitol MacConkey Agar		Scharlau	Spain

الوسط أو البيئة	الغاية منه	الشركة الصانعة	بلد المنشأ
Dichloran 18% Glycerol Agar DG-18	البيئة المستخدمة للكشف عن الخمائر والفطور	Biolab	Hungary
Nutrient Broth (NB)	مرق التغذية الخاص بالأحياء الدقيقة	Scharlau	Spain
Rabbit Coagulase Plasma	إضافة تأكيدية للكشف عن بكتيريا <i>Staphylococcus</i>	Merck	Germany
Brain Heart Infusion Broth	وسط مرق تأكيدية للكشف عن بكتيريا <i>Staphylococcus</i>	LIOFILCHEM	Italy
Trypticasein Soy Broth	وسط مرق إكثار لبكتيريا <i>Staphylococcus</i>	Condalab	Spain
Triple Sugar Iron Agar TSI	وسط تأكيدية خاص ببكتيريا <i>Salmonella</i>	LIOFILCHEM	Italy
Xylose Lysine Deoxycholate Agar XLD	وسط تأكيدية خاص ببكتيريا <i>Salmonella</i>	LIOFILCHEM	Italy

جدول 5 المواد المستخدمة في تقنية البلمرة المتسلسلة PCR

اسم المادة	الشركة الصانعة	بلد المنشأ
زوج البادئ الخاص بـ RpfB	Eurofins MWG Synthesis GmbH	Germany
زوج البادئ الخاص بـ ERIC		
G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit (for Bacteria)	Intron Biotechnology	Korea
PCR Master Mix (i-StarMAX™ II) 2X	Intron Biotechnology	Korea
DNA Marker SiZer™ DNA Markers	Intron Biotechnology	Korea
Agarose	peQLab	Germany
Tris-borate-EDTA (TBE) buffer	Bio-Rad	USA
Ethidium bromide	Merck	Germany
Water Nuclease Free	Bio Basic Inc	Canada

جدول 6 المواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات الكيميائية والتخمير

المادة الكيميائية	الغاية منه	الشركة الصانعة	بلد المنشأ
هيبوكلوريت الصوديوم NaOCl	تطهير الأنسجة النباتية	Merck	Germany
هيدروكسيد البوتاسيوم KOH	اختبار صبغة غرام	Merck	Germany
الماء الأوكسجيني H ₂ O ₂	اختبار الكتالاز وتقدير عنصري الرصاص والزنك	Carl Roth	Germany
هيدروكسيد الصوديوم NaOH	لتعديل pH الوسط	SIGMA-ALDRICH	Germany
كلوريد الأمونيوم NH ₄ Cl	مصدر نتروجين	Scharlau	Spain
نترات الأمونيوم NH ₄ NO ₃		Merck	Germany
نترات البوتاسيوم KNO ₃			
كبريتات الأمونيوم (NH ₄) ₂ SO ₄		BDH prolab	UK
الببتون Peptone		Biolab	Hungary
حمض البوريك	تقدير البروتين	SIGMA-ALDRICH	Germany
حمض الكبريت المركز	تقدير البروتين	Carl Roth	Germany
حمض كلور الماء المركز	تقدير البروتين وتعديل pH الوسط	PanReac AppliChem	Germany
حبات هاضمة	تقدير البروتين	Riedel-de Haën	Germany
أخضر كرموزول	مشعر لوني	Scharlau	Spain
أحمر الميثيل			
حمض الأزوت المركز	تقدير عنصري الرصاص والزنك	Merck	Germany
أسيتونتريل	تقدير السكريات	Merck	Germany
ستاندر سكروز	مصدر للكربون وقياس السكريات	Riedel-de Haën	Germany

المادة الكيميائية	الغاية منه	الشركة الصانعة	بلد المنشأ
ستاندر اللاكتوز	قياس السكريات	Riedel-de Haën	Germany
فوسفات البوتاسيوم الأحادية KH ₂ PO ₄	العناصر المغذية لوسط التخمير	Riedel-de Haën	Germany
كبريتات المغنيزيوم MgSO ₄		Merck	Germany
كلور الصوديوم NaCl		Riedel-de Haën	Germany
ايروبوبانول	ترسيب صمغ الكزانتان	Merck	Germany
صمغ الكزانتان المستورد	للمقارنة مع المستخرج مخبرياً	صيني	China
Thiobarbituric acid	قياس الترنخ	Sigma-Aldrich	Germany

جدول 7 المعدات والأجهزة المستخدمة في الاختبارات الكيميائية والجراثومية والعمليات التصنيعية.

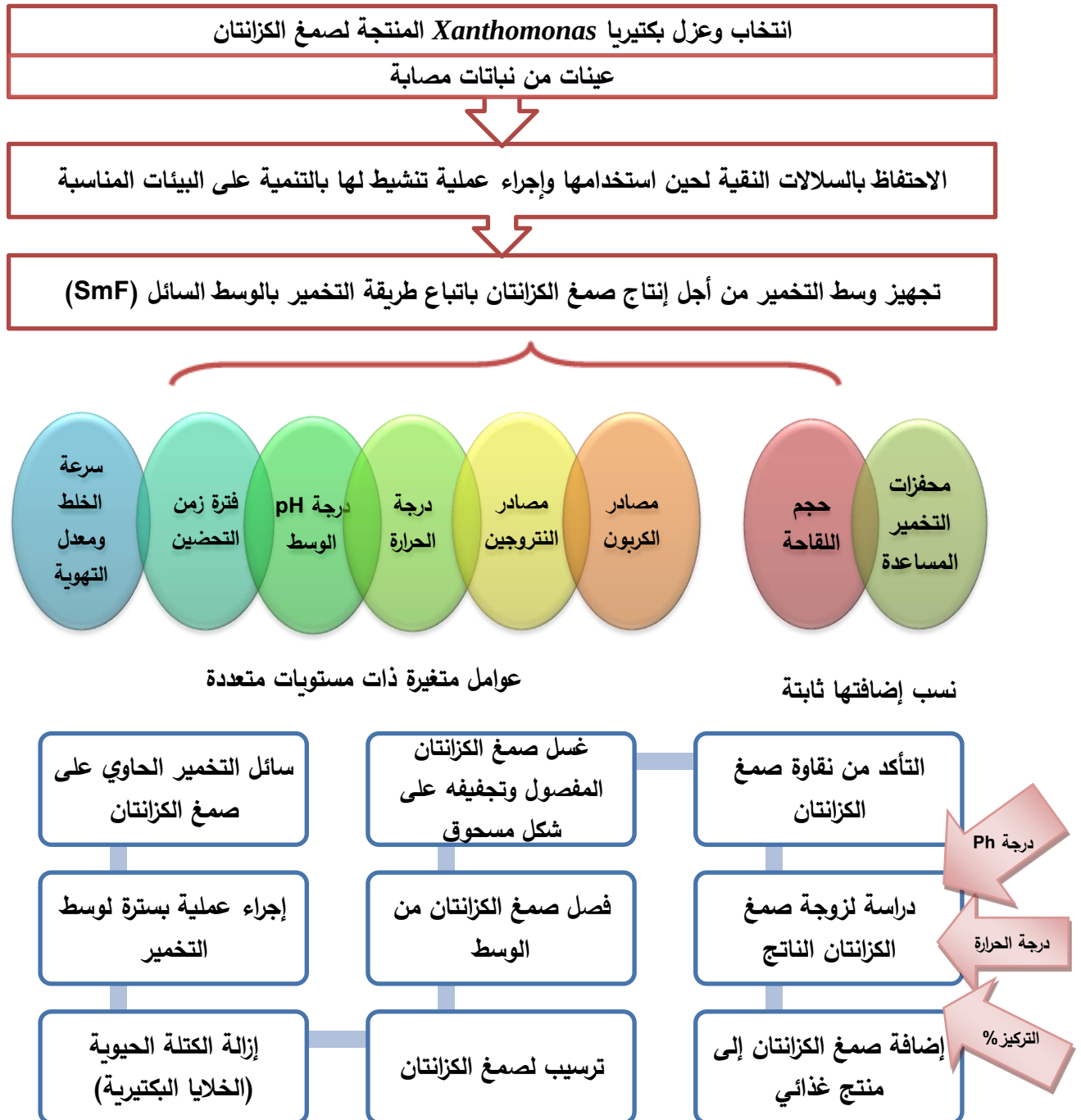
اسم الجهاز	الشركة الصانعة	بلد المنشأ
Eppendorf Mastercycler	Eppendorf AG	Germany
Vertical Laminar Flow Cabinet	PBI S.p.A.	Italy
مقلاة خاصة بـ PCR	Eppendorf AG	Germany
حاضنة هزازة خاصة بـ PCR	Labnet - VorTemp™ 56 Shaking Incubators	UK
جهاز التوثيق الرحلان /ماسح الهلأمة/	VILBER Lourmat	Germany
Consort EV series power supply	Merck	Germany
ميزان حساس (0.01) غ	Sartorius	Germany
ميزان حساس (0.0001) غ	METTLER TOLEDO	Switzerland
سخان مع محرك مغناطيسي	Clifton Cerastir	UK
فرن التجفيف	LTE - OP250	UK
جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC	LC20- liquid Chromatography Shimadzu	Japan
الحاضنة الهزازة المدمجة Compact Shaker Incubator	JSR	Korea
الحاضنة الهزازة Shaker Incubator	New Brunswick Scientific	U.S.A

اسم الجهاز	الشركة الصانعة	بلد المنشأ
مثقلة طرد مركزي	Androa GmbH.co.KG	Germany
جهاز قياس المطياف الضوئي UV-VISIBLE Spectrophotometer	SpectroScan	Cyprus
جهاز التعقيم الرطب - الأتوغلاف	ALP	Japan
فراصة اللحم	PORKERT	Československo
مكبس تصنيع أقراص البرغر	صناعة محلية	سوريا
المجمدة	Blomberg	Germany
جهاز قياس درجة الحرارة	Testo	UK
جهاز الامتصاص الذري	Analytik Jena	Germany
جهاز قياس عنصر الزئبق	Milestone - DMA-80 Direct Mercury Analyzer	U.S.A
فرن التجفيف	ISUZU	Japan
جهاز قياس pH	JENWAY	UK
فرن الترميد	CARBOLITE	UK
جهاز كداهل	FOSS	Denmark
جهاز قياس المطياف بتقنية FT-IR	Burker	Germany
جهاز مقياس اللزوجة	FungiLab	Spain
حاضنة جرثومية	Raypa	Spain
حاضنة جرثومية	BINDER	UK
حاضنة جرثومية	HERAEUS	UK
مجهر الكتروني	Shimadzu – Olympus	Japan
ميكروبييت Mechanical Pipette	Eppendorf	Germany

4.1. جمع وعزل البكتيريا المنتجة لصبغ الكزانتان:

4.1. Collection & Isolation of *Xanthomonas* Bacteria :

يبين الشكل (2) المخطط المتبع في عملية الحصول على بكتيريا *Xanthomonas* وأمثلة إنتاج صبغ الكزانتان.



الشكل 2 مخطط أمثلة إنتاج صبغ الكزانتان.

- جُمعت (60) عينة من النباتات التي تعتبر عائلاً ووسطاً مناسباً لبكتيريا *Xanthomonas*، وذلك في الفترة الممتدة ما بين 2017 و2018، وكانت هذه النباتات من نباتات الفصيلة الصليبية *Brassicaceae* والفصيلة المركبة (النجمية) *Asteraceae* والفصيلة النجيلية *Graminaceae* التي ظهرت عليها اعراض الإصابة ببكتيريا *Xanthomonas*، وكانت مصادر هذه العينات من مزارع حقلية من عدة محافظات سورية وهي: دمشق، وريف دمشق، وطرطوس، وحمص، وحماة، وتضمنت هذه العينات كل من نبات الملفوف الأبيض *Brassica oleraceae var. capitata*، ونبات الزهرة *Brassica oleraceae var. botrytis*، ونبات الخس *Lactuca sativa*، ونبات القمح الطري *Triticum aestivum*، ووضعت العينات في أكياس معقمة ودُونت عليها البيانات وأُحضرت إلى المخبر وحُفظت بالشكل المناسب لحين استكمال عمليات العزل والتحليل التأكيدي، ويُبين الجدول (8) عدد العينات المأخوذة من كل محافظة ونوع النبات مع أعراض الإصابة.

جدول 8 عدد العينات المأخوذة من كل محافظة ونوع النبات مع أعراض الإصابة

اعراض الإصابة	نوع النبات	المكان	الرمز	عدد العينات
ظهور تصبغات صفراء على اطراف الاوراق الخضراء بشكل حرف (v)	ملفوف	دمشق	A	20
	خس		C	12
	ملفوف	ريف دمشق	من 1 إلى 10	10
	زهرة	طرطوس	B	5
ظهور تبغات صفراء على الأوراق الخضراء (تخطط الأوراق البكتيري)	قمح	حماة	D	7
		حمص	E	6
المجموع				60

- أُخذت المناطق المصابة من النباتات، ممثلةً بالأوراق بواسطة أدوات حادة معقمة (مقص، شفرة)، وعُقمت الأنسجة النباتية سطحياً بنقعها في أنبوب اختبار يحتوي على محلول هيبوكلوريت الصوديوم 3% لمدة ثلاث

دقائق، ثم غُسلت محتويات الأنبوب فيما بعد بماء مقطر لإزالة آثار المحلول السابق عدة مرات، وطُحنت بعدها هذه العينات بماء مقطر، وتُركت لمدة 30 دقيقة لإتاحة المجال أمام تحرر الخلايا البكتيرية من الأنسجة النباتية، بهدف الحصول في النهاية على معلق بكتيري ضمن هذا المحلول (Sahin & Miller, 1996)، (مندو وزملاؤه، 2012).

- نقلت قطرة من المعلق البكتيري بنشرها على أطباق بتريّة تحوي وسط مغذي صلب كبيئة انتقائية GYCA وهي "Dextrose (Glucose) 50.0 g/l, Yeast Extract 10.0 g/l, Calcium Carbonate 5.0 g/l, Agar 20.0 g/l"، وحُضنت الأطباق عند درجة حرارة 30 م° مدة 3-5 أيام ضمن حاضنة جرثومية، ظهرت بعدها مستعمرات بكتيرية ذات قوام لزج يميل لونها ما بين الأبيض الكريمي والأصفر الغامق اللامع، وعُزلت المستعمرات المنفردة النامية على الأطباق، وأعيدت زراعتها ضمن الشروط السابقة للحصول على سلالة نقية، وأُحتفظ بها مجمدة عند درجة حرارة (-20) م° لحين استخدامها والتأكد من صفاتها اعتماداً على الاختبارات الحيوية الكيميائية والجزيئية (EPPO, 2013; Nitschke & Thomas, 1995).

4.2. الاختبارات المورفولوجية والحيوية الكيميائية لتحديد نوع بكتيريا *Xanthomonas*:

4.2. Morphological & Biochemical tests to identify *Xanthomonas* bacteria:

دُرست العزلات المستحصل عليها وفق دليل بيرجي Bergey للعام 2005 من ناحية بعض الخواص الشكلية (شكل المستعمرة، القطر، اللون، السطح)، والخواص المجهرية (شكل الخلية، الحركة، صبغة الغرام) للمستعمرات النامية، إضافة إلى إجراء بعض الاختبارات الحيوية الكيميائية (Sahin & Miller, 1996; Saddler & Bradbury, 2005) مثل:

4.2.1. اختبار الكatalase :Catalase test:

للكشف عن قدرة البكتيريا المدروسة على إنتاج أنزيم الكatalase الذي يحلل الماء الأوكسجيني H_2O_2 إلى ماء و O_2 عبر نشر مستعمرة من البكتيريا بواسطة الإبرة اللاقحة المعقمة والمبردة على سطح شريحة زجاجية، ثم إضافة قطرة من محلول H_2O_2 بتركيز 3%، فإذا تشكلت فقاعات غازية دلت على وجود أنزيم الكatalase.

4.2.2. اختبار الأوكسيداز Oxidase test:

للكشف عن قدرة البكتيريا المدروسة على إنتاج أنزيم Oxidase – Cytochrome الذي يؤكسد الكاشف-N,N-Indophenol إلى مركب إندوفينول dimethyl-p-phenylenediamine oxalate و a-naphthol في اللون البنفسجي أو الأزرق، حيث يستخدم قرص من الأقراص الخاصة باختبار الأوكسيداز ويُنشر فوقه مستعمرة من البكتيريا بواسطة الإبرة اللاقحة المعقمة المبردة، وتترك لمدة 30 ثانية، فإذا ظهر اللون البنفسجي الفاتح دل على وجود أنزيم الأوكسيداز وكانت النتيجة إيجابية، أما في حال بقاء لون القرص أبيضاً دل على سلبية الاختبار.

4.2.3. اختبار انطلاق غاز كبريت الهيدروجين H₂S Hydrogen sulfide test:

للكشف عن قدرة البكتيريا المدروسة على إطلاق غاز كبريت الهيدروجين H₂S من خلال اختزال بعض الأحماض الأمينية التي تحوي على عنصر الكبريت مثل السيستئين والميثيونين أو غيرها من المركبات اللاعضوية الموجودة ضمن الوسط الكاشف وهو SIM (Sulfide, Indole, Motility)، وفي حال تشكل غاز H₂S في الوسط يتغير لون الوسط إلى اللون الأسود.

4.2.4. اختبار اليورياز Urease test:

للكشف عن قدرة البكتيريا المدروسة على حلمأة اليوريا بواسطة أنزيم Urease وإنتاج الأمونيا وغاز CO₂ في الوسط، مما يسبب تغيراً في pH الوسط ويرفع قلوية الوسط وعبر مشعر أحمر الفينول يتغير اللون من الأصفر إلى اللون الزهري الفاقع الذي يدل على إيجابية الاختبار، والوسط المستخدم هو Christensen's Urea Agar.

4.2.5. اختبار صبغة غرام KOH حسب طريقة Ryu:

يعد اختباراً بديلاً عن اختبار صبغة الغرام، ويعتمد على استخدام محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH تركيز 3% عبر وضع قطرة منه على شريحة زجاجية، تُنشر عليها بواسطة الإبرة اللاقحة مستعمرة من البكتيريا وتمزج ضمن قطرة KOH مدة 1 دقيقة، تُرفع بعدها إبرة التلقيح ببطء، في حال تشكل خيط لزج بين الإبرة وقطرة

محلول KOH دل على أن البكتيريا سالبة الغرام (اختبار إيجابي)، أما في حال لم يتشكل خيط لزج دل على أن البكتيريا موجبة الغرام (اختبار سلبي).

4.2.6. اختبار إنتاج الأندول Indole Production:

للكشف عن قدرة البكتيريا على استهلاك وتحطيم الحمض الأميني التريبتوفان وإنتاج الأندول منه، ويُكشف عن وجود الأندول عبر استخدام بيئة مرق التريبتوفان Tryptone broth وبوجود كاشف Kovács، وفي حال كانت النتيجة إيجابية يتشكل حلقة زهرية اللون دليل على وجود مركب الأندول، أما في حال بقاء الوسط أصفر اللون كانت النتيجة سلبية.

4.2.7. اختبار إنتاج الأسيتون Acetoin Production:

لمعرفة مدى قدرة الكائن الحي على إنتاج مركب أسيتل ميتيل كربونيل من تخمير سكر الغلوكوز، الذي يتحول فيما بعد إلى دي. اسيتيل ذي اللون الوردي، وذلك باستخدام بيئة مرق MR-VP وكاشف Voges-Proskauer، وفي حال ظهر لون زهري محمر دل على قدرة إنتاج الاستيون (موجبة)، وفي حال كان اللون قد بقي أصفراً، كانت نتيجة الاختبار سلبية.

4.2.8. اختبار إرجاع النترات Nitrate Reduction:

يُستخدم للكشف عن قدرة الكائن الحي على إنتاج أنزيم Nitrate reductase الذي يقوم بإرجاع النترات NO_3 إلى نترت NO_2 ، ويستخدم لذلك بيئة مرق النترات والكواشف الخاصة بذلك.

4.2.9. اختبار حلمأة النشاء Hydrolysis of Starch:

للكشف عن مدى قدرة الكائن الحي على إفراز أنزيم الأميلاز، وحلمأة النشاء الموجود في الوسط، عن طريق إضافة النشاء إلى بيئة تنمية البكتيريا، وبعد انتهاء عملية التحضين ونمو البكتيريا يُضاف نقاط من محلول اليود Iodine، وفي حال ظهرت هالة صفراء حول المستعمرات البكتيرية كانت نتيجة الاختبار إيجابية أي تتمتع

بالقدرة على حلمأة النشاء، أما في حال عدم توفر أنزيم الأميلاز، يتلون النشاء الموجود في الوسط باللون البنفسجي وتكون النتيجة سالبة.

4.3. اختبارات تحديد نوع بكتيريا *Xanthomonas* وفق تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل:

4.3. The Bacteria Identifying Test by Polymerase Chain Reaction Tests (PCR):

تُصنف بكتيريا *Xanthomonas* من البكتيريا التي تواجه صعوبات في طريقة الكشف عن الخصائص الجينية لأنواعها، حيث تعتمد معظم الدراسات التي تجرى بتطبيق العلوم الجزيئية على تحليل المورثات الخاصة بـ 16S rRNA و 16A-23S rRNA في سبيل تمييز وتصنيف أنواع بكتيريا *Xanthomonas*، ولكن في العديد من الدراسات الأخرى وجدت صعوبة في تمييز أنواع بكتيريا *Xanthomonas* بسبب الدرجة العالية من العلامات الجزيئية الموجودة ضمن المادة الوراثية لها، ومن أجل معرفة وتمييز هذه العلامات بشكل فعال، فقد تم التأكيد في البحث على مجموعة من المورثات الخاصة بأنواع *Xanthomonas*، ومنها المورثة *atpD* والمورثة *RpfB* وقد تم اعتماد مورثة *RpfB* في الكشف عن نوع بكتيريا *X.campestris* حيث يعود لها القدرة الإراضية للبكتيريا على النبات، إضافة إلى ارتباطها بقدرة *X.campestris* على إفراز صمغ الكزانتان (Simões et al., 2007)، وكُشف عنها بتطبيق تقنية PCR عبر استخدام زوج من البادئات (مرئسات) Primes خاصة بهذه المورثة ذات التسلسل النيكلوتيدي الموضح في الجدول (9)، إضافة إلى ذلك استخدم زوج من البادئات (مرئسات) Primes الخاص بالنوع *X.campestris* لتمييز المورثة ERIC كون هذا النوع هو المستهدف في البحث عنه ضمن هذه الأطروحة (Asgarani et al., 2014)، ويوضح الجدول (9) التسلسل النيكلوتيدي لهذه المرئسات.

جدول 9 البادئات (المرئسات) المستخدمة في التأكد من هوية بكتيريا *Xanthomonas* وفق تفاعل البلمرة المتسلسل PCR

عدد النيكلوتيدات	التسلسل النيكلوتيدي	اسم البادئ Primer	مصدر البادئ (المرئس) Primer
22	5' GTC CTT GGT TGC AAA GTT ATC C-3'	<i>RpfB F</i>	Unmodified DAN Oligo, Eurofins MWG Synthesis GmbH, Germany.
19	Rev 5' AGG ATC TTG CCG ACG TTG G-3'	<i>RpfB R</i>	
22	5' ATG TAA GCT CCT GGG GAT TCA C -3'	<i>ERIC1R</i>	
22	5' AAG TAA GTG ACT GGG GTG AGC G-3'	<i>ERIC2</i>	

المصدر (Asgarani et al., 2014) (Simões et al., 2007)

وأتبعت الخطوات التالية من أجل الكشف والتأكد من العزلات البكتيرية التي أخضعت إلى الاختبارات الحيوية الكيميائية:

4.3.1. استخلاص المادة الوراثية DNA من البكتيريا:

4.3.1. DNA Extraction from Bacteria:

استخلصت المادة الوراثية DNA من مستعمرات بكتيرية حديثة النمو بعمر 24 ساعة المنماة في بيئة YPD Kit باستخدام "Dextrose 20.0 g/l, Yeast Extract 10.0 g/l, Peptone 20.0 g/l" BROTH الاستخلاص (G-spin™ Genomic DNA Extraction Kit (for Bacteria)، وطُبقت تعليمات الشركة الصانعة، وحفظت المادة الوراثية DNA للعزلات عند درجة حرارة - 20 م°، بعد أن حُضرت تمديدات من هذه العزلات بتركيز (10) نانوغرام/ميكرو لتر لحين استخدامها في اختبارات تفاعل البلمرة المتسلسل PCR اللاحقة (ISO 20837, 2006).

4.3.2. تطبيق تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل:

4.3.2. The Polymerase Chain Reaction Test (PCR):

اتبعت طريقتان من أجل التحري عن وجود مورثة RpfB واستخدام مورثة ERIC وذلك وفق التالي:

4.3.2.1. مورثة RpfB (Fatty Acyl-CoA ligase) التي تتحكم بتعبير المورثات المسؤولة عن إنتاج

السكريات المتعددة عند جنس بكتيريا *Xanthomonas*:

خُضر مزيج بحجم نهائي يعادل (25) μ l مكون من: (12.5) μ l PCR Master Mix 2X، و(2) μ l DNA المعزول للعينة و(1) μ l من كل بادئ مستخدم والخاص بالمورثة RpfB، وأُكمل الحجم بالماء منزوع الشوارد حيث أُضيف (8.5) μ l، إضافة إلى مزيج شاهد لا يحوي على عينة DNA (Simões et al., 2007).

طُبّق النظام الحراري ضمن جهاز Eppendorf Master cycler، الذي تضمن برنامج تفاعل التضخيم المتسلسل مرحلة التسخن الأولي (Initial denaturation) عند درجة حرارة 94 م مدة 1 دقيقة، وتكون البرنامج من 40 دورة مُقسمة إلى عدة مراحل وهي:

مرحلة التسخن (Denaturation) 94 م مدة 1 دقيقة، ومرحلة الالتحام (Annealing) 53 م مدة 1 دقيقة، ومرحلة الاستطالة (Extension) 72 م مدة 2 دقيقة، وفي نهاية الدورات خُصنت المحتويات عند درجة حرارة 72 م مدة 1 دقيقة كمرحلة استطالة نهائية (Final extension)، وحُفظت نواتج التفاعل عند درجة حرارة 4 م، لحين إجراء عملية الترحيل الكهربائي وقراءة النتائج (ISO 20838, 2006).

4.3.2.2. مورثة ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) الخاصة

بالبصمة الوراثية:

خُضر مزيج بحجم نهائي يعادل (25) μ l مكون من: (12.5) μ l PCR Master Mix 2X، و(1) μ l DNA المعزول للعينة و(1) μ l من كل بادئ مستخدم والخاص بالمورثة ERIC، وأُكمل الحجم بالماء منزوع الشوارد حيث أُضيف (9.5) μ l، إضافة إلى مزيج شاهد لا يحوي على عينة DNA (Asgarani et al., 2014).

طُبِق النظام الحراري ضمن جهاز Eppendorf Mastercycler، الذي تضمن برنامج تفاعل التضخيم المتسلسل مرحلة التسخن الأولي (Initial denaturation) عند درجة حرارة 95 م° مدة 5 دقائق، وتكون البرنامج من 30 دورة مُقسمة إلى عدة مراحل وهي:

مرحلة التسخن (Denaturation) 94 م° مدة 1 دقيقة، ومرحلة الالتحام (Annealing) 52 م° مدة 1 دقيقة، ومرحلة الاستطالة (Extension) 72 م° مدة 1 دقيقة، وفي نهاية الدورات حُصنت المحتويات عند درجة حرارة 72 م° مدة 10 دقائق كمرحلة استطالة نهائية (Final extension)، وحُفظت نواتج التفاعل عند درجة حرارة 4 م°، لحين إجراء عملية الترحيل الكهربائي وقراءة النتائج (ISO) (2006, 20838).

4.3.3. الرحلان الكهربائي وتحليل النتائج Electrophoresis & Results Analysis:

رُحلت نواتج البلمرة لكل من مورثات RpfB و ERIC بهدف التأكد من نجاح عملية البلمرة عبر إجراء عملية الرحلان الكهربائي باستخدام هلام الآغاروز تركيز 1% و 1.5% على التوالي، حيث احتوى على صبغة الايتيديوم برومايد Ethidium bromide ضمن محلول TBE (Tris –base, Boric acid, EDTA) بتركيز 1X و 0.5X، وطُبِق جهد (فرق كمون) 100 و 70 فولط على التوالي، وأجريت مقارنة مع مؤشر الوزن الجزيئي DNA Marker، وبعد انتهاء المدة دُرست الحزم المتشكلة وُحِلَّت الصور باستخدام جهاز توثيق الهلامات Gel documentation system عبر التصوير تحت الأشعة فوق البنفسجية UV (Simões et al., 2007; Asgarani et al., 2014).

4.4. إنتاج صمغ الكزانثان عن طريق التخمر بالوسط السائل:

4.4. Xanthan Production by Submerged Fermentation (SmF):

استخدمت طريقة التخمر بواسطة الوسط السائل لإنتاج صمغ الكزانثان من السلالات البكتيرية التي غرِبت وعزلت في الفقرة السابقة، والتي تمت وفق الخطوات التالية:

4.4.1. مرحلة تحضير المزرعة الأم:

4.4.1. Microorganism & Inoculum Preparation Stage:

أُخذت المستعمرات البكتيرية حديثة النمو من الأطباق الحاوية على بيئة GYCA بعمر 3/ أيام فقط، حيث لُفحت بها دوارق زجاجية حاوية على (50) مل من البيئة السائلة YPD، وحُضنت الدوارق مدة 3/ أيام عند درجة (28) م في الحاضنة الرجاجة Incubator Shaker حتى الوصول إلى كثافة ضوئية OD₆₀₀ تساوي (0.8) باستخدام جهاز المطياف (Spectrophotometer) أي ما يعادل 10⁷ خلية بكتيرية /مل، واستُخدمت فيما بعد هذه المزرعة لتلقيح بيئة التخمر النهائية (Moshaf *et al.*, 2014; Papagianni *et al.*, 2001;) (Shu & Yang, 1990).

4.4.2. مرحلة تحضير وسط التخمر النهائي Fermentation Preparation Stage:

4.4.2.1. مكونات وسط التخمر Substrates preparation:

أ. مصدر النتروجين Nitrogen Source: استخدمت خمس مصادر مختلفة من النتروجين (الأزوت) بصورته العضوية والمعدنية (النقية)، وهي: نترات البوتاسيوم KNO₃، وكلور الأمونيوم NH₄Cl₂، وكبريتات الأمونيوم (NH₄)₂SO₄، ونترات الأمونيوم NH₄NO₃، والبيبتون العضوي، وأضيف كل مصدر من هذه المصادر على حدى ونسبة 0.6% (Kumara Swamy *et al.*, 2012)، وأجريت مقارنة بين هذه المصادر لانتقاء أفضلها، إذ يعتبر النتروجين عنصراً مهماً في تنمية بكتيريا *Xanthomonas campestris* وتحفيزها على إنتاج صمغ الكزانتان، أعطيت مصادر النتروجين أرقام محددة في سبيل تسهيل تسمية المعاملات المنفذة فيما بعد، وهي وفق الجدول (10):

جدول 10 مصادر النتروجين المعدنية والعضوية المستخدمة في عملية التخمر

الرقم	1	2	3	4	5
مصدر النتروجين	نترات الأمونيوم	نترات البوتاسيوم	كلور الأمونيوم	كبريتات الأمونيوم	البيبتون

ب. مصدر الكربون **Carbon Source**: استخدمت ثلاث مصادر مختلفة للكربون والتي تحتوي على مادة السكر إما بصورتها النقية أو من مصادر سكرية صُنفت من مخلفات الصناعات الغذائية، وهي: السكر النقي، مولاس الشوندر السكري الناتج عن عمليات تصنيع السكر الأبيض من المؤسسة العامة للسكر - مصل اللبن الناتج عن إنتاج اللبن والجبن في العديد من المعامل الصناعية الغذائية ومنها الشركة العامة لألبان دمشق، وأضيف كل مصدر من هذه المصادر على حدى بعد أن حُضرت محاليل منها تركيزها 4% من السكر (Manjunath, 2012; Tuncay Gumus et al., 2010) وفق التالي:

(1) السكر **Sucrose**: أوصى Letisse وزملاؤه (2001) بتحضير محلول من السكر النقي بتركيز 4% بعد التأكد من التركيز عبر استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة HPLC في التحليل الكمي للسكريات (EN 12630, 1999; ISO 10504, 1998)، مع إضافة مصدر من مصادر النتروجين والمشار إليها ضمن الجدول (10)، وغيرها من العناصر الأخرى المغذية الخاصة بإعداد وسط التخمر، وضبط pH الوسط للوصول إلى pH متعادل يساوي (7) باستخدام إما حمض كلور الماء نظامي (0.1) أو هيدروكسيد الصوديوم نظامي (0.1)، وعُقم الوسط فيما بعد عبر استخدام الأتوغلاف عند درجة حرارة (121) م مدة (15) د، حيث أصبح جاهزاً لاستكمال عمليات التخمر.

(2) مولاس الشوندر السكري **Sugar Beet Molasses**: أشار Gomashe وزملاؤه (2013) إلى ضرورة تعديل التركيب الكيميائي لمولاس الشوندر السكري من ناحية مجموع المواد الصلبة الذائبة للوصول إلى تركيز (4%) عبر التمديد بالماء المقطر، والتسخين لدرجة (90) م في حمام مائي مدة (10) د، والتثليل مرتين مدة (20) د على سرعة (2000) د/د، وبعد التأكد من التركيز عبر استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة HPLC في التحليل الكمي للسكريات (EN 12630, 1999; ISO 10504, 1998)، أُضيفت مصادر النتروجين والعناصر الأخرى المغذية الخاصة بإعداد وسط التخمر، مع ضبط pH الوسط للوصول إلى pH متعادل يساوي (7)، وعُقم الوسط فيما بعد عبر استخدام الأتوغلاف عند درجة حرارة (121) م مدة (15) د وأصبح جاهزاً لاستكمال عمليات التخمر.

(3) **مصل اللبن Whey**: حُضِرَ محلول مصّل اللبن الناتج عن عملية تصنيع المنتجات اللبنية عبر التخلّص من المواد غير الذوابة بالترشيح، وتركيز نسبة السكر (اللاكتوز) للوصول إلى تركيز (4)% ضمن المحلول، عبر التأكد من التركيز عبر استخدام تقنية الكروماتوغرافيا السائلة HPLC في التحليل الكمي للسكريات (ISO 11868, 2007)، بعدها أُضيفت مصادر النتروجين والعناصر المغذية الأخرى، مع ضبط pH الوسط للوصول إلى pH متعادل يساوي (7)، وعُقم الوسط فيما بعد عبر استخدام الأتوغلاف عند درجة حرارة (121) م° مدة (15) د، وأصبح جاهزاً لاستكمال عمليات التخمير، وأُجريت هذه الطريقة وفق الدراسة المعدة من قبل Savvides وزملائه (2012).

أُعطيت مصادر الكربون أرقام محددة في سبيل تسهيل تسمية المعاملات المنفذة فيما بعد، ما هو موضح بالجدول (11):

جدول 11 مصادر الكربون المستخدمة في عملية التخمير

الرقم	1	2	3
مصدر الكربون	السكروز	مولاس الشوندر السكري	مصل اللبن

ت. **العناصر المغذية والمحفزة لعملية التخمير The Nutrients & Fermentation Stimulants**: أُضيفت بعض العناصر الغذائية التي يتطلبها نشاط بكتيريا *X.campestris* وتحفيز البكتيريا على إنتاج صمغ الكزانتان (Nitschke et al., 2001)، مع المحافظة قدر الإمكان على درجة حموضة الوسط ثابتة خلال فترة التخمير وتراكم النواتج الثانوية لعملية التخمير، ويوضح الجدول (12) العناصر الغذائية التي استخدمت في وسط التخمير النهائي.

جدول 12 العناصر الغذائية المستخدمة في وسط التخمر النهائي

المادة المغذية	الكمية المضافة %
فوسفات البوتاسيوم الأحادية KH_2PO_4	0.5
كبريتات المغنيزيوم MgSO_4	0.01
كلور الصوديوم NaCl	0.1

4.4.2.2. تحضير وسط التخمر النهائي The Final Fermentation Preparation:

حُضر وسط التخمر النهائي بوضع 50 مل في دوارق زجاجية سعة 250 مل، حيث أضيفت كل من مصادر الكربون الثلاث كل على حدى بالتركيز المطلوب (4%)، ومصادر النتروجين الخمس كل على حدى وبالتركيز المطلوب (6%)، إضافة إلى فوسفات البوتاسيوم الأحادية (0.5%) وكبريتات المغنيزيوم (0.01%) وكلور الصوديوم (0.1%)، وضبطت درجة pH الوسط حسب القيم المدروسة وعُقدت الأوساط وفق ما ذكر في الفقرات السابقة، ولُفحت الأوساط بجزء من وسط المزرعة الأم الذي يمثل لقاحة المعلق البكتيري الحاوية على 10⁷ خلية/مل، وبحجم يوازي 7% من حجم محلول التخمر النهائي، ووضعت الدوارق الزجاجية في الحاضنة الرجاجة (Manjunath, 2012; Carignatto *et al.*, 2011; Papagianni *et al.*, 2001)، وقد بلغ عدد محاليل التخمر النهائية المستخدمة (15) محلول والمبينة في الجدول (13).

جدول 13 محاليل (أوساط) التخمر النهائية التي حضرت من أجل إنتاج صمغ الكزانتان

المحاليل (أوساط التخمر)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
مصدر الكربون	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
مصدر النتروجين	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5

4.4.3. أمثلة ظروف إنتاج صمغ الكزانتان:

4.4.3. Optimization for Xanthan Gum Production:

لتحديد الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان دُرس تأثير أربع متغيرات وهي درجة حرارة الحضانة، وزمن التخمر، وسرعة الخلط ومعدل التهوية، ودرجة pH الوسط، في إنتاج صمغ الكزانتان وذلك عبر البرنامج الإحصائي وطُبقت من خلاله شروط عملية التخمر الأربع وذلك وفق التالي:

أ- **درجة حرارة وسط التخمر:** طُبقت خمس درجات حرارة مختلفة خلال فترة التخمر، لانتقاء الدرجة المثلى التي توافقت مع أفضل إنتاج من صمغ الكزانتان باستخدام أوساط التخمر النهائية المشار إليها في الجدول (13)، وكانت درجات الحرارة المطبقة:

28 - 30 - 32 - 34 - 36 م.

ب- **درجة حموضة أو pH وسط التخمر:** ضُبِطت حموضة الوسط على خمس مستويات من خلال إضافة إما حمض كلور الماء HCl أو ماءات الصوديوم NaOH إلى وسط التخمر، واختيار أفضل درجة حموضة، وكانت درجة pH المطبقة:

5-6-7-8-9 درجة.

ت- **سرعة الخلط خلال فترة التخمر:** نفذت خمس سرعات لعملية الخلط مختلفة لانتقاء أفضل معدل يُعطي أعلى إنتاج من صمغ الكزانتان، وكانت السرعات المطبقة هي:

150-200-250-300-400 دورة في الدقيقة.

ث- **الفترة الزمنية لعملية التخمر:** طُبقت خمس فترات زمنية مختلفة لإنتاج أكبر كمية من صمغ الكزانتان وبجودة عالية وهي:

36-48-60-72-90 ساعة.

4.4.4. مرحلة الحصول على صمغ الكزانتان بصورته النقية وتقدير الكمية المنتجة:

4.4.4. Xanthan Gum Purification & Estimation:

4.4.4.1. تقدير الكتلة الحيوية الجافة Biomass Estimation:

أنهيت عملية التخمير بإجراء عملية البسترة لوسط التخمير، وبغرض فصل الكتلة الحيوية عن البيئة التي يتواجد فيها صمغ الكزانتان أخذ 20 مل من مرق التخمير وثقل المحلول على أعلى سرعة (10000) د/د مدة (10) دقائق على درجة حرارة 4 م، حيث تشكل طورين الأول هو الطور السائل الذي أحتفظ به لفصل وتقدير صمغ الكزانتان، والطور الثاني يمثل الراسب المكون من الكتلة الحيوية لبكتيريا *Xanthomonas*، الذي غُسل ثلاث مرات باستخدام الماء المقطر ضمن أنابيب الاختبار، وجفف الراسب وهو الكتلة الحيوية ضمن أطباق تجفيف معروفة الوزن في الفرن عند درجة حرارة 60 م لمدة 12 ساعة حتى ثبات الوزن، ووزنت الأطباق في نهاية عملية التجفيف لمعرفة الكتلة الحيوية الناتجة (Bhat et al., 2018).

4.4.4.2. استخلاص صمغ الكزانتان Xanthan Recovery:

أخذ الطور السائل المشار إليه في الفقرة السابقة وأضيف إليه كحول ايزوبروبانول بحجم (1:2) للمحلول الناتج، الذي عمل على ترسيب صمغ الكزانتان، ورُشح الراسب بواسطة ورق الترشيح، ولابد من الإشارة إلى أن الراسب يتكون من صمغ الكزانتان ومن بعض الشوائب غير الذائبة العائدة لأوساط التخمير المستخدمة، ونظراً لطبيعة الكزانتان المحبة للماء تم غسل الراسب بالماء لإزالة صمغ الكزانتان لدى عملية الترشيح، وجُفف الراسب (الصمغ) الناتج ضمن فرن التجفيف على درجة حرارة ما بين (50-60) م لمدة 24 ساعة، حتى ثبات الوزن، وقيس الوزن الجاف للصمغ بعد ذلك (قاسم والجادر، 2010) (Kumara Swamy et al., 2012).

4.4.4.3. التأكد من هوية ونقاوة صمغ الكزانتان:

4.4.4.3. Ensuring the xanthan gum identity and purity:

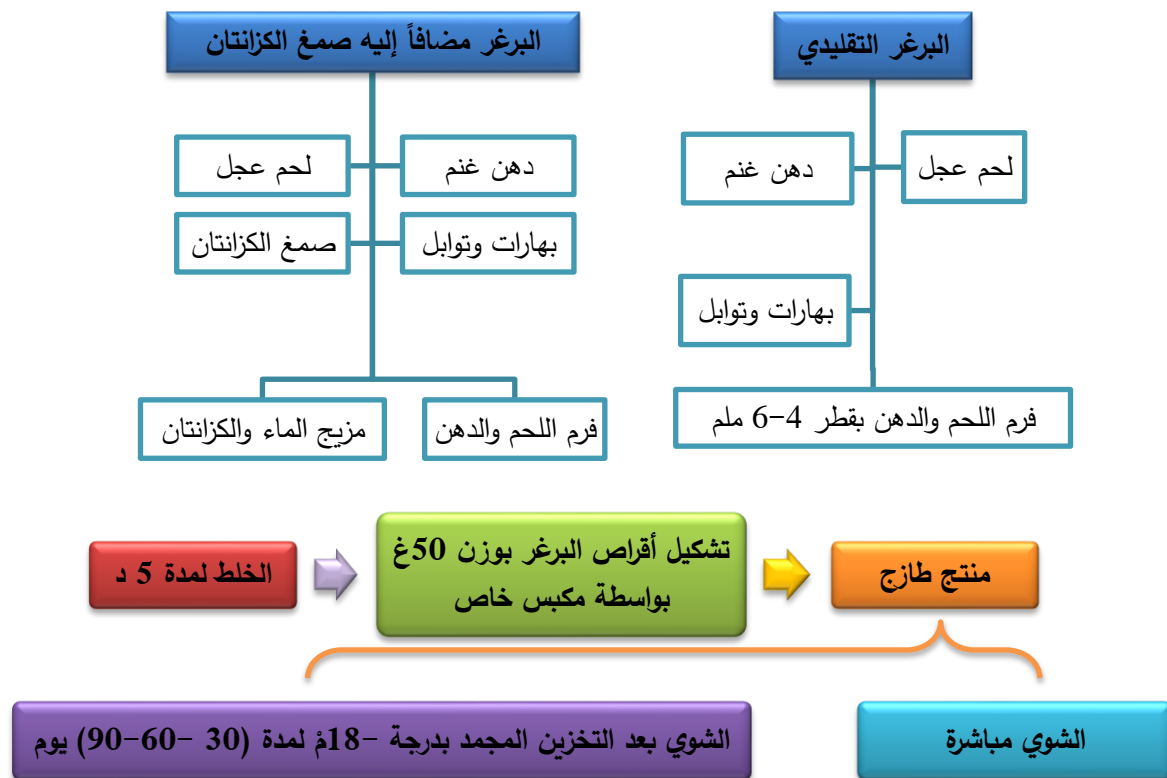
أُجري التأكد من هوية ونقاوة الراسب الأبيض الناتج من عمليات الاستخلاص وقبل استخدامه في التطبيقات الغذائية اللاحقة وذلك عبر استخدام تقنية تحويل فورييه للأشعة تحت الحمراء Fourier Transform Infrared (FT-IR) وذلك ضمن مخابر هيئة الطاقة الذرية، وطُبقت آلية العمل المعتمدة لعمل الجهاز (Bhat *et al.*, 2018).

4.5. دراسة الخصائص الريولوجية لصمغ الكزانتان Rheological Characterization:

دُرِس أثر كل من اختلاف درجات الحرارة و pH المحاليل الحاوية على صمغ الكزانتان، إضافة إلى أثر التركيز المضاف من الصمغ في لزوجة هذه المحاليل، باستخدام جهاز قياس اللزوجة Fungilab والمغزل Spindle من نمط L3، حيث قيست اللزوجة عند أربع درجات مختلفة من درجة الحرارة (25، 40، 60، 80) °م، وأربع درجات من pH المختلفة (3.5، 5، 7، 9)، وبإضافة ثلاث تراكيز مختلفة من صمغ الكزانتان (0.5، 1، 1.5) %، وأُجريت مقارنة ما بين الخصائص الريولوجية المتعلقة باللزوجة لكل من صمغ الكزانتان المنتج مخبرياً والصمغ التجاري في الظروف المشار إليها أعلاه (Mudoi *et al.*, 2013).

4.6. إعداد خلطات البرغر البقري Beef burger Production:

أُنتج البرغر البقري وفقاً للمخطط التكنولوجي لتحضير وصناعة البرغر البقري المبين في الشكل (3)، مع مراعاة الخصائص التي تنص عليها المواصفة القياسية السورية رقم (2836) للعام 2003 الخاصة باللحوم ومنتجاتها/الهمبرغر، وأُتُبعت الخطوات التالية:



الشكل 3 المخطط التكنولوجي لتحضير وصناعة البرغر البقري

4.6.1. تحضير المواد الأولية Preparation of Raw Materials:

- اللحم والدهن Meat & Fat: أُحضرت كل من عينات اللحم البقري (العجل) الطازج ودهن الغنم من السوق المحلي في مدينة دمشق، واختيرت كل من قطع اللحم البقري من منطقة الخاصرة (Sirloin tip side steak)، ودهن الغنم من منطقة اللية في الخاروف، قُطعت قطع اللحم والدهن إلى قطع صغيرة ووُضعت في فرامة اللحم ذات ثقب (5) ملم، وقد بلغت كمية اللحم البقري حوالي (1.5) كغ لكل عينة (خلطة)، وبوزن إجمالي قد بلغ (18.5) كغ، في حين بلغ الوزن الإجمالي لدهن الغنم المضاف حوالي (4.2) كغ، مع اختلاف نسبة إضافته بحسب العينات المدروسة والمبينة وفق الجدول (14).

- التوابل والبهارات **Spices & Seasonings**: استخدم خليط من التوابل والبهارات المطحونة يتضمن: الفلفل الأسود، والكزبرة اليابسة، والقرفة الناعمة، والكمون، وجوزة الطيب، والبابريكا (الفليفلة الحلوة)، وأضيف هذا الخليط كنسبة تعادل 5% من الوزن الكلي لكل عينة (خلطة)، وترافقت إضافة ملح الطعام إلى الخلطات بعد أن تم احتساب الكمية المضافة منه بنسبة لا تزيد عن 2% من الوزن الكلي للعينة.
- **صمغ الكزانتان Xanthan Gum**: أُضيف صمغ الكزانتان كبديل عن الدهن ضمن خلطات البرغر البقري المبينة في الجدول (14)، واستخدم ضمن ثلاثة تراكيز وهي: 0.5% و 1% و 1.5% من وزن كتلة الدهن المضافة الكلية لعينات البرغر البقري، حيث أذيب ضمن كمية قليلة من ماء الشرب قبل إضافته إلى خلطات البرغر البقري بغرض تشكيل هلام يسهل التعامل معه لدى إعداد خلطات البرغر فيما بعد.

4.6.2. تحضير أقراص البرغر البقري **Beef burger Preparation**:

حُضرت كافة خلطات البرغر البقري بإضافة 70% من اللحم البقري المفروم، وبنسب مختلفة من دهن الغنم المفروم وهي 30% لخلطة البرغر التقليدي (الشاهد) و (25، 20، 15، 10)% لخلطات البرغر البقري منخفض الدسم، مع إضافة نسب مختلفة من صمغ الكزانتان (بدون إضافة، 0.5، 1، 1.5)%، وماء بارد، وخليط من البهارات والتوابل بنسبة (5)% وملح الطعام بنسبة (2)%، ويبين الجدول (14) خلطات البرغر البقري المدروسة، حيث شُكلت أقراص البرغر بعد إعداد الخلطات المطلوبة، بواسطة مكبس أقراص البرغر، وتراوحت أوزان الأقراص المتشكلة حوالي (50) غ وبثخانة (5) ملم.

جدول 14 مكونات خلطات البرغر البقري %

المكونات	الخلطات													%	
	C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		
لحم العجل	70													من المكونات الأساسية	
دهن الغنم	30			25			20			15			10		
صمغ الكزانثان	0	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5	0.5	1	1.5		
الماء	0	4.5	4	3.5	9.5	9	8.5	14.5	14	13.5	19.5	19	18.5		
البهارات	5													من كامل الخلطة	
الملح	2														

4.6.3. حفظ البرغر البقري بالتجميد Beef burger Frozen Storage:

قُسمت خلطات البرغر البقري الجاهزة (المكونة من 40 قرصاً لكل خلطة) إلى أربع دفعات، حيث حُصصت الدفعة الأولى لعملية الطبخ بالشي (Cooking with Grill) مباشرة، التي تمثل اللحظة البدائية (الصفراء)، في حين جُمعت الدفعات الثلاث المتبقية عند درجة حرارة (-18) مضمن المجمدة الكهربائية بعد أن غُلقت ضمن أكياس بلاستيكية من البولي إيثيلين محكمة الإغلاق، وحُفظت مدة (3) أشهر مقسمة إلى ثلاثة فترات وهي (30، 60، 90) يوماً، حيث أُجريت الاختبارات والتحليل اللازمة على خلطات البرغر البقري سواء قبل أو بعد طبخها بواسطة الشوي وذلك بنهاية كل فترة من الفترات الزمنية الثلاث.

4.6.4. طبخ البرغر البقري Burgers Cooking:

أُجريت عملية طبخ أقراص البرغر البقري بواسطة مقلاة مسطحة اعتماداً على طريقة الشي (Cooking with Grill) دون إضافة أي كمية إضافية من الدسم أو الزيوت خلال عملية الشي، وأُبقي كل وجه من وجهي قرص البرغر البقري لمدة زمنية لا تزيد عن 5 دقائق لإتمام عملية الطبخ، مع التأكد من وصول درجة حرارة منتصف المنتج إلى (72) م بغرض إتمام عملية النضج، حيث قيسَت الحرارة بواسطة ميزان حراري الخاص بالطبخ.

4.7. اختبارات البرغر البقري: Beef Burger Tests

4.7.1. الاختبارات الكيميائية: Chemical Analysis

البرغر البقري قبل عملية الطبخ، حيث تُدر كل من البروتين والدهن والرطوبة والرماد وفق مايلي:

4.7.1.1. الرطوبة: Moisture

قدر محتوى عينات البرغر البقري من الرطوبة حسب طريقة ISO رقم 1442 للعام 1997 من خلال أخذ كمية محددة من قرص البرغر البقري (5) غ وتجفيفها في فرن التجفيف عند درجة حرارة (105) م حتى ثبات الوزن، ويُمثل الفاقد من الوزن المحتوى الرطوبي لخلطات البرغر البقري (ISO 1442, 1997).

4.7.1.2. البروتين: Protein

قدر محتوى عينات البرغر البقري من البروتين حسب المواصفة القياسية السورية رقم 85 للعام 2013 وباستخدام جهاز كلاهل وباعتبار معامل التحويل هو 6.25 (م.ق.س. 85، 2013).

4.7.1.3. الدسم: Fat

قدر محتوى العينات من الدسم وفق طريقة AOAC رقم (920.39) للعام 2006 باستخدام جهاز سوكسلت هنكل، الذي يعتمد على استخلاص الدسم من العينة بوجود مذيب عضوي مناسب وهو إيثير البترول وحساب النسبة المئوية للدسم من وزن الدسم المتبقي إلى وزن العينة (A.O.A.C. 920.39, 2006).

4.7.1.4. الرماد: Ash

قدر الرماد في عينات البرغر البقري وفق طريقة ISO رقم 936 للعام 1998، بأخذ وزن محدد من خلطة البرغر البقري، ووضعه في بوتقة خاصة من البورسلان معلومة الوزن، ووُضعت البوتقة بعدها في فرن الترميد على درجة حرارة (550) م مدة (4) ساعات، وأُخرجت بعدها البوتقة وبردت تدريجياً، حيث حُسبت نسبة الرماد بوزن الرماد المتبقي إلى وزن العينة (ISO 936, 1998).

إضافة إلى التحاليل الخاصة بالتركيب الكيميائي للبرغر البقري، أُجري كل من تقدير التزنخ والكشف عن الملوثات المعدنية في منتج البرغر البقري، وذلك وفق التالي:

4.7.1.5. تقدير التزنخ (تأكسد الدهون):

4.7.1.5. Determination of Rancidity (Lipid Oxidation):

أُجري الكشف عن مقدار التزنخ الحاصل في عينات البرغر البقري الطازج والمجمد وفق المواصفة القياسية السورية رقم 3892 للعام 2018، عبر تقدير رقم TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances) حيث أُستخدم كاشف حمض الثيوباربيتوريك (Thiobarbituric Acid) معبراً عنه بعدد المليغرامات من مالون دي ألدهيد (MDA) (Malondialdehyde) في كيلوغرام من العينة (م.ق.س. 3892، 2018).

4.7.1.6. تقدير الملوثات المعدنية Determination of Heavy Metals Contaminants:

أُجري الكشف عن الحدود القصوى للملوثات المعدنية في خلطات البرغر البقري وبالتحديد لكل من عنصري الرصاص والزنك ومقارنتها مع الحدود القصوى المشار إليها في متن المواصفة القياسية السورية رقم 2836 للعام 2003، حيث قُدر عنصر الرصاص باستخدام جهاز الامتصاص الذري AAS بتقنية اللهب عبر الترميد الرطب بواسطة حمض الأزوت والماء الأوكسجيني وذلك وفقاً لكل من المواصفة القياسية السورية رقم 3779 للعام 2015 بجزيئها (1) و(2)، في حين قُدر عنصر الزنك باستخدام جهاز تقدير عنصر الزنك وفق طريقة EPA رقم 7473 للعام 1998.

4.7.2. الاختبارات الفيزيائية Physical Characteristics:

4.7.2.1. فاقد الطبخ (Cooking Loss):

أُحتسب الفاقد الحاصل للوزن خلال عملية الطبخ عبر وزن أقراص البرغر قبل عملية الطبخ وفق طريقة Niamnuy وزملاؤه (2008)، وطُبقت المعادلة التالية لاحتساب فاقد الطبخ:

$$\text{فاقد الطبخ \%} = \frac{\text{وزن العينة الأولية} - \text{وزن العينة بعد الطبخ}}{\text{وزن العينة الأولية}} \times 100$$

4.7.2.2. التقلص (تغير القطر) (Shrinkage after cooking):

أُحتسب من خلال مقدار تقلص أقراص البرغر وفق طريقة Ibrahim وزملاؤه (2011) بواسطة مسطرة ديجيتال، وطُبقت المعادلة التالية:

$$\text{التقلص \%} = \frac{\text{مقدار (قطر العينة الأولية - قطر العينة المطبوخة) - (ثخانة العينة الأولية - ثخانة العينة المطبوخة)}}{\text{ثخانة العينة الأولية + قطر العينة الأولية}} \times 100$$

4.7.3. الاختبارات الجرثومية Microbiological Evaluation:

أُجريت الاختبارات الجرثومية لعينات البرغر البقري قبل وبعد الحفظ بالتجميد، كما أُجري اختبار لخلطات البهارات والتوابل التي أُضيفت إلى خلطات البرغر لمعرفة مدى الحمولة الجرثومية التي فيها، واتبعت كل من طريقتي الأيزو (ISO 7218, 2007) و (ISO 6887-1, 2017) في تحضير الأوساط وقراءة النتائج، والمواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2179، 2007) التي تتضمن الحدود الجرثومية المسموح فيها ضمن المنتجات الغذائية والمواد الداخلة فيها وبالأخص - الهمبرغر غير المطهي، وخليط التوابل والبهارات، والأحياء الدقيقة التي تم التحري عن وجودها هي:

التعداد العام للأحياء الدقيقة، بكتيريا الكوليفورم، بكتيريا العنقوديات الذهبية، بكتيريا السالمونيلا، وبكتيريا الأشريكية القولونية الممرضة O157:7H وتعداد الخمائر والفطور وذلك وفق التالي:

4.7.3.1. التعداد العام للأحياء الدقيقة Total Plate Count:

أُجري التعداد العام للأحياء الدقيقة في عينات البرغر البقري باتباع طريقة الأيزو (ISO 4833, 2003) عبر استخدام بيئة Plate Count Agar، بعد أن عُمت بالأتوغلاف عند درجة حرارة 121 م، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 30 م ضمن الحاضنة الجرثومية مدة 72 ساعة.

4.7.3.2. بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية موجبة التخثر Staphylococcus aureus:

أُجري الكشف عن وجود المكورات العنقودية الذهبية في عينات البرغر البقري و خليط البهارات والتوابل المضافة إلى البرغر باتباع طريقة المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2822، 2003) عبر استخدام كل من وسط الإكثار

السائل (TSB) Trypticasein Soy Broth وبيئة Baird Parker Agar (BP) وإضافة مستحلب تيلوريت صفار البيض Tellurite Egg Yolk Emulsion والأوساط التأكيدية مرق مستخلص الدماغ والقلب Brain- Heart Infusion Broth وبلازما الأرنب Rabbit Plasma، بعد أن عُقمت الأوساط بالأتوغلاف عند درجة حرارة 121 م، وحضنت الأطباق عند درجة حرارة 37 م ضمن الحاضنة الجرثومية مدة 48 ساعة.

4.7.3.3. بكتيريا السالمونيلا *Salmonella*:

أجري الكشف عن وجود بكتيريا السالمونيلا في عينات البرغر البقري وخليط البهارات والتوابل المضافة إلى البرغر وفق طريقة الأيزو (ISO 6579, 2002)، باستخدام كل من وسط الإكثار السائل Syelentie Cystine Broth ووسط Salmonella- Shigella Agar (S-S agar) والأوساط التأكيدية Triple Sugar Iron Agar و (TSI) Agar و Christensen Urea Agar و Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD)، بعد أن عُقمت الأوساط بالأتوغلاف عند درجة حرارة 121 م، وحُضنت العينات عند درجة حرارة 37 م ضمن الحاضنة الجرثومية مدة 18 ساعة في وسط الإكثار وبعدها مدة 24 ساعة باستخدام وسط S-S agar.

4.7.3.4. بكتيريا الكوليفورم *Coliform*:

تم التحري عن وجود بكتيريا الكوليفورم في عينات البرغر البقري وخليط البهارات والتوابل المضافة إلى البرغر وفق طريقة الأيزو (ISO 4831, 2006) و (ISO 4832, 2006)، باستخدام بيئة Violet Red Bile Agar (VRBA)، بعد أن عقت بالغلان عند درجة الحرارة 100 م، وتحضين العينات عند درجة حرارة 37 م في الحاضنة الجرثومية مدة 24 ساعة.

4.7.3.5. بكتيريا الإشريكية القولونية الممرضة *E.coli O157:7H*:

أجري التحري عن وجود بكتيريا الإشريكية القولونية الممرضة O157:7H في عينات البرغر البقري غير المطهي باتباع طريقة المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 3311، 2007)، وباستخدام كل من وسط مرق الإكثار Cefixime Modified Trypticasein Soy Broth + Novobiocin (mTSB+N) ووسط الكشف و وسط الإكثار Tellurite Sorbitol MacConkey Agar (CT-SMAC Agar)، بعد أن عُقمت الأوساط بالأتوغلاف

عند درجة حرارة 121 م°، وحضنت العينات عند درجتَي الحرارة 41.5 م° و 37 م° ضمن الحاضنة الجرثومية مدة 18 ساعة في وسط الإكثار وبعدها مدة 24 ساعة باستخدام وسط CT-SMAC agar.

4.7.3.6. التعداد العام للخمائر والفطور Total yeast and molds count:

أجري التعداد العام للخمائر والفطور في خلطات البهارات والتوابل قبل إضافتها إلى خلطات البرغر البقري اعتماداً على طريقة الأيزو (ISO 21527-2, 2008)، باستخدام بيئة الكشف Dichloran (18%) -Glycerol Agar Base (DG-18)، بعد أن عُقم الوسط بالأتوغلاف عند درجة حرارة 121 م°، وحضنت العينات عند درجة حرارة 25 م° ضمن الحاضنة الجرثومية مدة 5 أيام.

4.7.3.7. تحضير عينات الاختبار والتخفيفات المطلوبة لكافة الاختبارات الجرثومية:

4.7.3.7. Preparation of test samples, initial suspension & decimal dilutions for microbiological examination:

حُضرت محاليل التخفيف لإجراء الفحوصات الجرثومية لكافة عينات البرغر البقري باتتباع طريقة الأيزو (ISO 6887-2, 2017)، باستخدام بيئة Buffer Peptone Water (BPW)، سواء للتخفيف الأولي الذي يتضمن 225 مل من بيئة BPW وأكمل الحجم بوزن 25 غ من عينات البرغر البقري، و للتخفيف العشرية الأخرى التي تتضمن 9 مل من بيئة BPW وأكمل الحجم بـ 1 مل من التخفيف الأولي، وبعد أن عُقت بالأتوغلاف على درجة حرارة 121 م° مدة 15 دقيقة.

4.7.4. الاختبارات الحسية Sensory Evaluation:

قُيِّمت الصفات الحسية (اللون، القوام، الطعم، القبول العام) لمعاملات البرغر البقري المدروس قبل وبعد فترات التخزين المجمد بواسطة لجنة تذوق مكونة من 9 أشخاص مدربين لإجراء الفحوص الحسية حيث استخدمت طريقة The 9- Point Hedonic Scale وفق طريقة (Lawless & Heymann, 2010) من خلال إعطاء 9 درجات لكل صفة، ووفقاً للجدول (15)، واستخدم نموذجاً أعد لهذه الغاية، انظر الملحق (2).

جدول 15 مقياس اختبار الصفات الحسية لمعاملات البرغر البقري

The 9- Point Hedonic Scale مقياس		
Like extremely	مقبول بدرجة عالية جدا	9
Like very much	مقبول بدرجة عالية	8
Like moderately	مقبول بدرجة متوسطة	7
Like slightly	مقبول بدرجة قليلة	6
Neither Like nor Dislike	بين المقبول وعدم المقبول	5
Dislike slightly	غير مقبول بدرجة قليلة	4
Dislike moderately	غير مقبول بدرجة متوسطة	3
Dislike very much	غير مقبول بدرجة عالية	2
Dislike extremely	غير مقبول بدرجة عالية جدا	1

4.8. التحليل الإحصائي:

4.8. Statistical Analysis:

أجري التحليل الإحصائي على شقين، حيث كان الشق الأول متعلقاً بأمثلة إنتاج صمغ الكزانتان وفق Psomas وزملاؤه (2007) وبالاعتماد على تصميم التجارب المتقدم Response Surface Methodology (RSM)، الذي تم من خلاله وضع عدد التجارب المستخدمة في عملية الأمثلة التي تُعطي النتائج الأكثر منطقية عبر دراسة تأثير كل متغير على حدى وتأثير المتغيرات المتداخلة مع بعضها البعض، واختبار تحليل التباين ANOVA لحساب التباين والمتوسطات والفروق المعنوية لكل اختبار، والمكررات اللازمة لكل معاملة، حيث أجريت بداية تجربة أولية لانتخاب مصدري الكربون والنيتروجين الأفضلين من حيث كمية الكزانتان المنتجة، تلى ذلك دراسة أثر كل من العوامل المتبقية (درجة حرارة الحضانة - مدة التخمير - pH الوسط - سرعة الخلط)، ويوضح الجدول (16) قيم المتغيرات المدروسة ومستوياتها.

جدول 16 المتغيرات المدروسة ومستوياتها، موضوعة باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab.

المتغيرات				مستويات المتغيرات
سرعة الخلط (دورة/دقيقة)	زمن التخمير (سا)	pH	درجة حرارة الحضانة (°م)	بصورة رمز
150	36	5	28	$\alpha^- = -2$
200	48	6	30	-1
250	60	7	32	0
300	72	8	34	+1
400	90	9	36	$\alpha^+ = +2$

ويعبر الجدول (17) عن التصميم الإحصائي للتجارب الذي وضع باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab، حيث بلغت عدد التجارب المنفذة (30) تجربة.

جدول 17 التصميم الإحصائي للتجارب باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab.

المتغيرات رقم التجربة	درجة حرارة الحضانة (°م)	زمن التخمر (سا)	رقم الحموضة	سرعة الخلط (دورة/دقيقة)
1	30	48	6	200
2	34	48	6	200
3	30	72	6	200
4	34	72	6	200
5	30	48	8	200
6	34	48	8	200
7	30	72	8	200
8	34	72	8	200
9	30	48	6	300
10	34	48	6	300
11	30	72	6	300
12	34	72	6	300
13	30	48	8	300
14	34	48	8	300
15	30	72	8	300
16	34	72	8	300
17	32	60	7	250
18	32	60	7	250
19	32	60	7	250
20	32	60	7	250
21	28	60	7	250
22	36	60	7	250
23	32	36	7	250
24	32	90	7	250
25	32	60	5	250
26	32	60	9	250
27	32	60	7	150
28	32	60	7	400
29	32	60	7	250
30	32	60	7	250

ولمعرفة العلاقة ما بين الكمية المنتجة من صمغ الكزانتان Response (Y) والمتغيرات الأربعة المدروسة في طريقة التخمير بالوسط السائل Independent variables (X_i)، فقد عُبر عنها بموجب معادلة من الدرجة الثانية وذلك وفق مايلي:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

حيث:

Y : المعامل المدروس وهو الكمية المنتجة من صمغ الكزانتان Response، β_0 : ثابت، X_{ij} : العوامل المستقلة المدروسة Independent variables، β_i : المعامل الخطي، β_{ii} : المعامل التربيعي، β_{ij} : معامل الارتباط.

$$Y = \beta_0 + bX_1 + cX_2 + dX_3 + eX_4 + fX_1^2 + gX_2^2 + hX_3^2 + iX_4^2 + jX_1X_2 + kX_1X_3 + lX_1X_4 + mX_2X_3 + nX_2X_4 + rX_3X_4.$$

حيث:

X_1 : درجة حرارة الحضان، X_2 : زمن التخمير، X_3 : رقم الحموضة، X_4 : معدل وسرعة الخلط والتهوية.
 b, c, d, e : المعامل الخطي، f, g, h, i : المعامل التربيعي، j, k, l, m, n, r : المعاملات المتداخلة (معامل الارتباط).

وكان الشق الثاني لعملية التحليل خاص باختبارات خلطات البرغر البقري، حيث أُجري التحليل الإحصائي بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة عبر استخدام تحليل التباين ANOVA باستخدام اختبار General linear model عند مستوى الثقة 5%، واستخدام اختبار F وتوزع التباين لتحديد أفضل خلطة من خلطات البرغر البقري منخفض الدسم باستخدام صمغ الكزانتان التي حافظت على الصفات المرغوبة في هذا المنتج، ونُفذ التحليل الإحصائي لكامل الدراسة باستخدام كل من برنامج التحليل الإحصائي Minitab إصدار (19.0)، وبرنامج SPSS إصدار (24.0).

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

5. النتائج والمناقشة:

5. Results and Discussion:

5.1. نتائج جمع وعزل البكتيريا المنتجة لصبغ الكزانتان:

5.1. The result of collection & isolation for *Xanthomonas* bacteria :

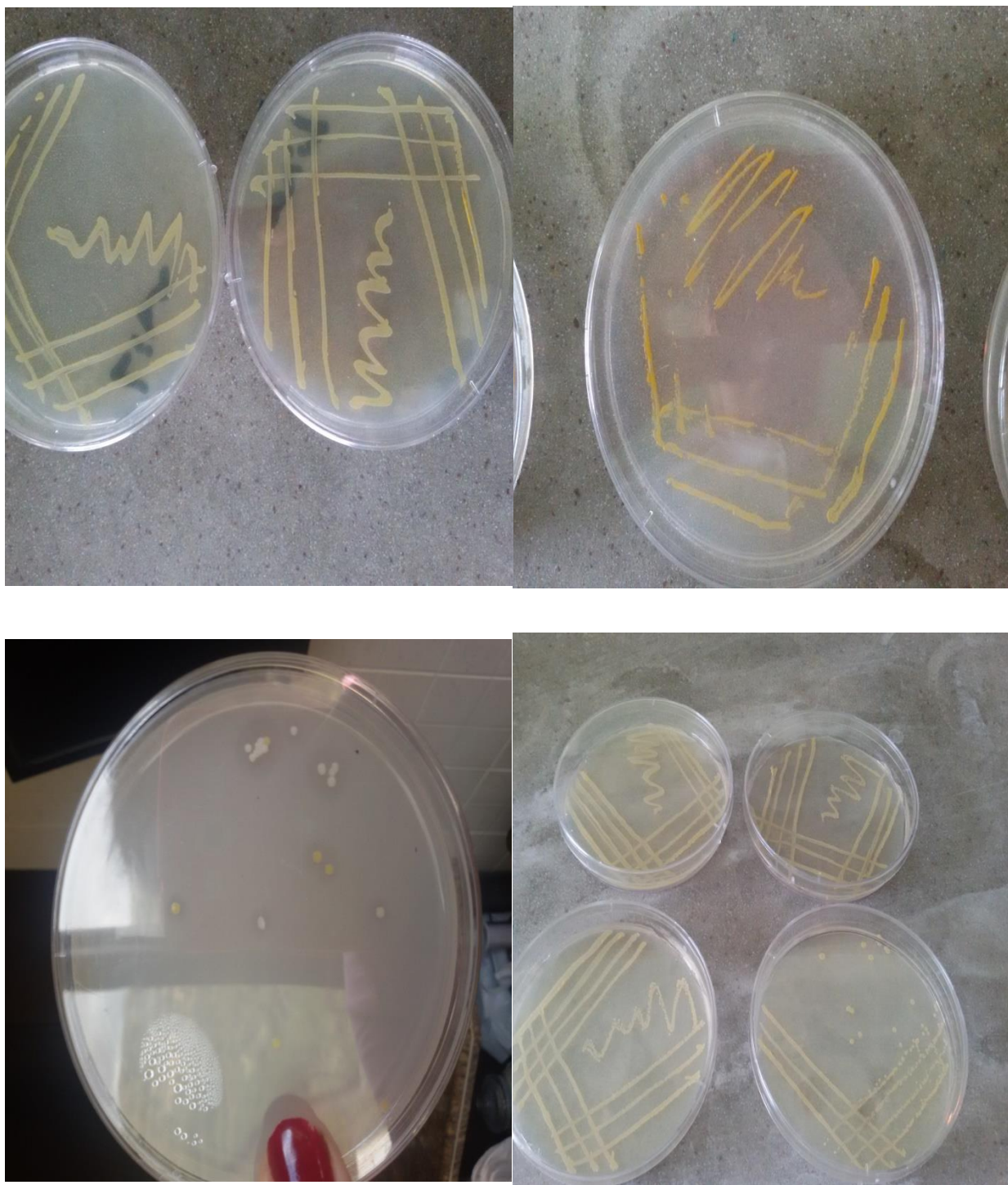
جُمع بشكل عشوائي (60) عينة من النباتات التي بدت عليها أعراض الإصابة ببكتيريا *Xanthomonas*، والمتمثلة بظهور تصبغات صفراء على أطراف الأوراق الخضراء بشكل حرف (v)، والعائدة لنبات الملفوف والزهرة والخس، إضافة إلى ظهور خطوط موازية للعرق الرئيسي ضمن أوراق نبات القمح، ويُوضح الشكل (4) صوراً توضيحية عن هذه الأعراض.

أُخذت بعدها المناطق المصابة من عينات النباتات وطُبقت الخطوات التي تضمن الحصول على المعلق البكتيري من هذه العينات والمذكورة سابقاً ضمن الفقرة (4.1)، لُقحت الأطباق البترية الحاوية على الوسط المغذي **GYCA** بالمعلق البكتيري، وحُضنت مدة 3-5 /أيام عند درجة حرارة 30 م°، حيث بدت المستعمرات البكتيرية على شكل مستعمرات تعلوها طبقة صفراء لزجة مميزة، والموضحة ضمن الشكل (5) الذي يبين شكل

المستعمرات البكتيرية المميزة لبكتيريا *Xanthomonas*.



الشكل 4 صور توضيحية عن أعراض الإصابة ببكتيريا *Xanthomonas* على النباتات المدروسة.



الشكل 5 المستعمرات البكتيرية لبكتيريا *Xanthomonas* على بيئة GYCA.

5.2. نتائج اختبارات تحديد نوع بكتيريا *Xanthomonas* وفق الطرائق المورفولوجية والحيوية الكيميائية:

5.2. The morphological & biochemical results:

عُزل ما مجموعه (32) عزلة من عينات النباتات البالغ عددها (60) عينة، وذلك استناداً إلى دليل بيرجي Bergey للعام 2005، حيث دُرست العزلات البكتيرية من ناحية بعض الخواص الشكلية (شكل المستعمرة - القطر - اللون - السطح)، والخواص المجهرية (شكل الخلية - الحركة - صبغة الغرام)، ويوضح الجدول (18) نتائج الصفات المورفولوجية المميزة لعزلات بكتيريا *Xanthomonas*، إضافة إلى اختبارات أخرى حيوية كيميائية (الكتالاز - H₂S - الأوكسيداز - اليورياز.....) حيث كانت هذه العزلات متوافقة من حيث نتائج الصفات المدروسة مع أبحاث كل من (Naqvi et al., 2013; Soudi et al., 2011; Saddler & Bradbury, 2005) على أنها تابعة لجنس بكتيريا *Xanthomonas* وتشابهه في صفاتها للنوع *campestris*، واستبعدت بقية العزلات التي لم تحقق أوصاف بكتيريا *Xanthomonas* من الدراسة استناداً إلى دليل بيرجي Bergey، ويبين الجدول (19) نتائج الصفات الحيوية الكيميائية لعزلات بكتيريا *Xanthomonas*.

جدول 18 الصفات المورفولوجية لعزلات بكتيريا *Xanthomonas*.

الرقم	الخصائص	النتيجة
1	شكل الخلية البكتيرية تحت المجهر	عصوية
2	ابعاد الخلية (μm)	0,4-0,6×1,0-2,9
3	صفات المستعمرة	ظهور أصبغة صفراء - بيضاء كريمية لزجة ملساء - مرتفعة قليلاً عن سطح الطبق
4	صبغة الغرام	سالبة الغرام

جدول 19 الصفات الحيوية الكيميائية المميزة لعزلات بكتيريا *Xanthomonas*.

رقم العزلة	المكان	المصدر	الصفات الحيوية الكيميائية																	
	دمشق	ملفوف	اختبار KOH	أوكسيداز	الكاتلاز	H2S	يوريناز	هوائية/لاهوائية	قدرة على الحركة	إنتاج حمض	تحليل النشاء	إرجاع التترات	أنول	استيتون	pH=4.5	37 °م	38 °م	NaCl=4%		
1A	دمشق	ملفوف	+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
2A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
3A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	
4A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	
5A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	
6A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
7A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
8A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
14 A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
15 A			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+
16 A	+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
18 A	+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
20 A	+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
1C	دمشق	خس	+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
2C			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
3C			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+		
5C			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+		
10 C			+	-	+	+	-	هوائية	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	

تابع جدول 19

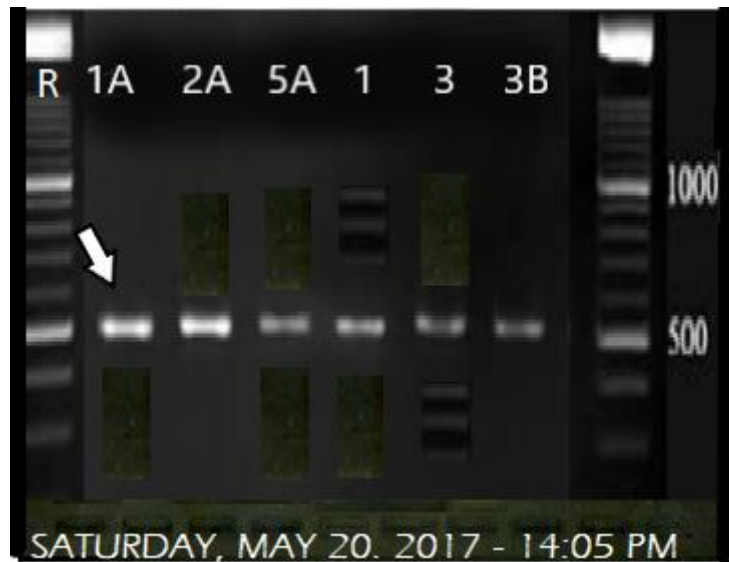
رقم العزلة	12 C	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1B	2B	3B
المكان	دمشق	ريف دمشق										طرطوس		
المصدر	خس	ملفوف										زهرة		
الصفات														
اختبار KOH	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
أوكسيداز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
الكاتلاز	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H2S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
يوريناز	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
هوائية/الاهوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية	هوائية
قدرة على الحركة	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
إنتاج حمض	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
تحليل النشاء	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
إرجاع التترات	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
أنزول	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
اسيتون	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ph=4.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37 ºم	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38 ºم	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NaCl=4%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

5.3. نتائج اختبارات تحديد نوع بكتيريا *Xanthomonas* وفق تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل:

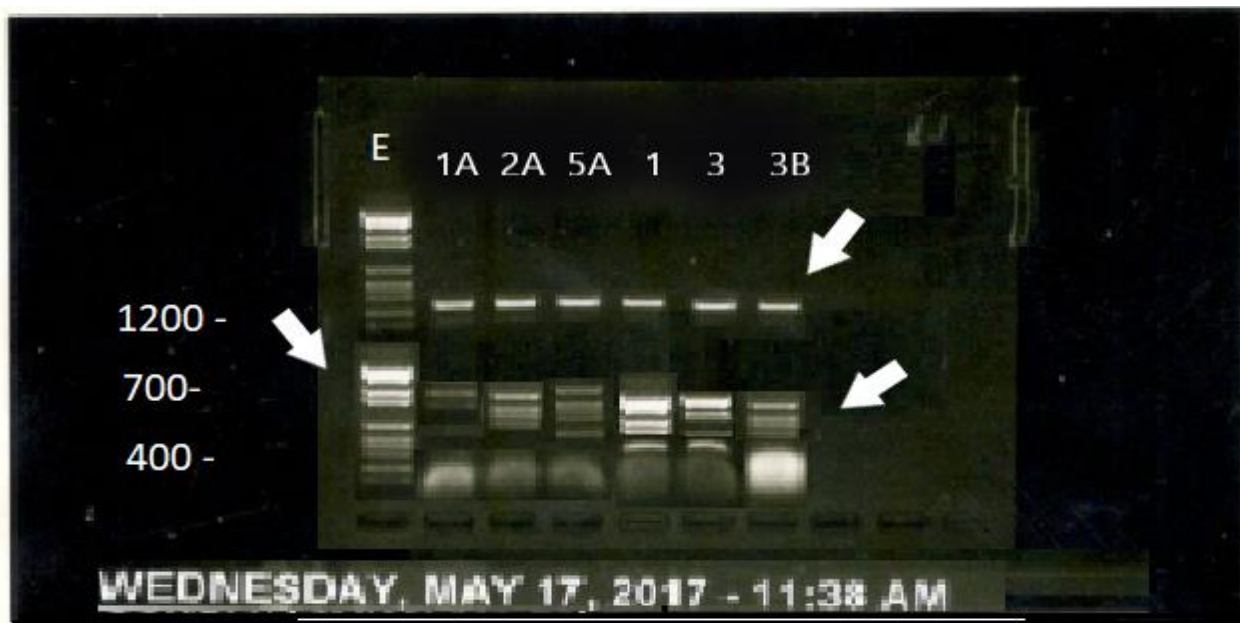
The results of Polymerase Chain Reaction tests (PCR):

أظهرت ست عزلات من أصل اثنين وثلاثين عزلة (التي أُخضعت للاختبارات الحيوية الكيميائية) التي تم التوصل إليها وفقاً لتقانة تفاعل البلمرة المتسلسل PCR التوافق المطلوب عبر استخدام البادئات (مرسّات) الخاصة بالجنس *Xanthomonas* والنوع *campestris*، المشار إليها ضمن الجدول (9)، ويوضح كل من

الشكلين (6) و(7) نتائج الرحلان الكهربائي على هلام آغاروز (1، 1.5%)، حيث ظهرت ثلاث عصابات وكانت أطوالها بين (base pairs) (bp 400- bp1200) عند العزلات باستخدام المرئسات *ERIC1R* و*ERIC2*، بينما ظهرت عصابة واحدة لدى استخدام زوج المرئسات *RpfBF* و*RpfBR* وكان طول العصابة (530) bp، ويتناسب طول العصابات مع ما أورده كل من Asgarani وزملائه (2014)، وSimões وزملائه (2007)، وMondal وMani (2009)، وتوزعت هذه العزلات على 3 محافظات: دمشق (3) عزلات عائدة لنبات الملفوف، ريف دمشق (2) عزلتين عائدتين لنبات الملفوف، طرطوس (1) عزلة واحدة عائدة لنبات الزهرة.



الشكل 6 نتائج الرحلان الكهربائي على هلام أгарوز باستخدام زوج مرئسات RpfBF و RpfBR لعزلات بكتيريا *Xanthomonas campestris* الستة (1A-2A-5A-1-3-3B) مقارنة مع زوج المرئسات R.



الشكل 7 نتائج الرحلان الكهربائي على هلام أгарوز باستخدام زوج مرئسات ERIC1R و ERIC2 لعزلات بكتيريا *Xanthomonas campestris* الستة (1A-2A-5A-1-3-3B) مقارنة مع زوج المرئسات E.

5.4. نتائج إنتاج صمغ الكزانتان عن طريق التخمير بالوسط السائل:

5.4. The results of xanthan gum production by Submerged Fermentation (SmF):

5.4.1. نتائج التجربة الأولية لانتقاء أفضل مصدرين من الكربون والنيتروجين ضمن برنامج ثابت من شروط عملية التخمير المدروسة:

5.4.1. The results of the initial experiment to select the best sources of carbon and nitrogen:

خُضرت أوساط التخمير بوضع (50) مل في دوارق زجاجية احتوت على جزء من سائل المزرعة الأم بحجم يوازي (7%) من حجم وسط التخمير المكون من المحاليل المحضرة وفق الجدول (13)، وأُجريت بعدها عملية التخمير ضمن برنامج ثابت من شروط عملية التخمير (درجة حرارة الحضانة، وزمن فترة التخمير، ودرجة pH الوسط، وسرعة الخلط) التي تعتبر مثالية لدى استخدام السكرور كمصدر للكربون وذلك بناءً على دراسات وأبحاث علمية سابقة (Selva Mohan & Babitha, 2010; Ashour et al., 2000)، والمبينة وفق الجدول (20).

جدول 20 شروط المرحلة الأولية لعملية التخمير لإنتاج صمغ الكزانتان

درجة حرارة الحضانة (م°)	رقم الحموضة (pH)	زمن التخمير (سا)	سرعة الخلط (دورة/دقيقة)
32	7	60	250

ويشير الجدول (21) إلى نتائج التجربة الأولية من كمية صمغ الكزانتان المنتجة باستخدام مصادر مختلفة من الكربون والنيتروجين وذلك ضمن برنامج ثابت من شروط عملية التخمير معبراً عنها كمتوسط حسابي وانحراف المعياري لهذه القيم، وعدد المكررات ثلاث مكررات.

جدول 21 مردودية إنتاج صمغ الكزانتان (غ/ل) في التجربة الأولية باستخدام مصادر مختلفة من الكربون والنيتروجين

N	الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي	نوع مصدر النيتروجين	نوع مصدر الكربون
3	.28	12.25	KNO3	السكروز
3	.10	10.87	NH4Cl	
3	.27	9.98	(NH4) ₂ SO4	
3	.43	11.76	NH4NO3	
3	.06	11.83	peptone	
15	.87	11.34	المتوسط الحسابي	
3	.04	11.31	KNO3	مصل اللبن
3	.07	10.87	NH4Cl	
3	.18	8.62	(NH4) ₂ SO4	
3	.05	12.84	NH4NO3	
3	.05	11.2567	peptone	
15	1.40	10.98	المتوسط الحسابي	
3	.26	11.24	KNO3	مولاس الشوندر السكري
3	.12	10.68	NH4Cl	
3	.22	10.50	(NH4) ₂ SO4	
3	.29	13.67	NH4NO3	
3	.12	11.06	peptone	
15	1.20	11.43	المتوسط الحسابي	

5.4.1.1. نتائج تأثير اختلاف مصادر الكربون في إنتاج صمغ الكزانتان:

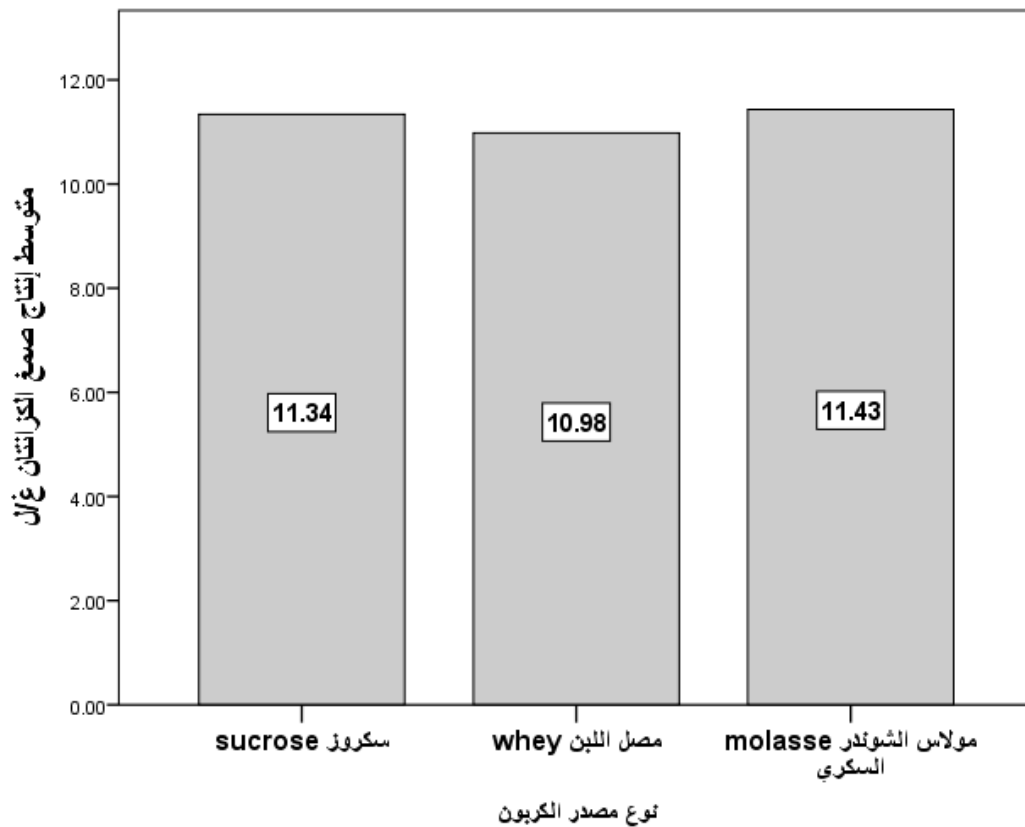
5.4.1.1. The effect of carbon sources on xanthan gum production:

تبين من خلال التحليل الإحصائي لمخرجات عملية إنتاج صمغ الكزانتان الأولية وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في النتائج باختلاف مصادر الكربون المستخدمة، حيث تفوقت معنوياً ($P \leq 0.05$) كل من المحاليل ذوات الأرقام (6، 7، 8، 9، 10) في مردودية إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مولاس الشوندر السكري (2) كمصدر للكربون، إذ بلغ متوسط إنتاج صمغ الكزانتان لهذه المحاليل (11.43) غ/ل، مقارنة مع نتائج مردودية المحاليل ذوات الأرقام (1، 2، 3، 4، 5) الحاوية على السكروز (1) و(11، 12، 13، 14، 15) الحاوية على مصل اللبن (3) كمصدر للكربون في إنتاج صمغ الكزانتان، حيث بلغ متوسط الإنتاج كمية (11.34) غ/ل و(10.98) غ/ل لكل

من السكروز ومصل اللبن على التوالي، وتتفق هذه النتائج مع دراسة كل من (Moosavi-Nasab et al., 2010) و(قاسم والجادر، 2012) و(قاسم وزملاؤه، 2005).

يعود تفوق مولاس الشوندر السكري في زيادة إنتاج صمغ الكزانتان بواسطة بكتيريا *X. campestris* ، إلى احتوائه على عوامل مساعدة للنمو بشكل طبيعي من أملاح معدنية والأحماض الأمينية وبعض الفيتامينات، إلى جانب الكربوهيدرات المتمثلة بالسكروز تدعم زيادة نمو بكتيريا *X.campestris* وتساهم في زيادة إنتاجها من صمغ الكزانتان (Murad et al., 2019)، في حين لا يعتمد السكروز النقي سوى إلى توفير مصدر الكربون لصالح بكتيريا *X.campestris* خلال عملية التخمير، ومن جانب آخر، يعود انخفاض كمية صمغ الكزانتان الناتجة عن سكر اللاكتوز في مصل اللبن مقارنة مع بقية مصادر الكربون الأخرى إلى صعوبة استقلاب اللاكتوز من قبل بكتيريا *X. campestris* مقارنة مع قدرتها في استقلاب السكروز إلى صمغ الكزانتان، ويتفق ذلك مع نتائج دراسة (قاسم والجادر، 2012) و(قاسم وزملاؤه، 2005)، ويُبرر ذلك لانخفاض قدرتها على تفكيك اللاكتوز لعدم وفرة أنزيم β -galactosidase ضمن خلايا بكتيريا *Xanthomonas* الذي يعمل بدوره على حلماء سكر اللاكتوز إلى سكريات بسيطة والتي تحول فيما بعد إلى صمغ الكزانتان (Kawahara & Obata, 1998).

يوضح الشكل (8) المنحنى البياني الخاص بمتوسط إنتاج صمغ الكزانتان (غ/ل) باستخدام ثلاثة مصادر من الكربون.



الشكل 8 تأثير اختلاف مصدر الكربون على إنتاج صمغ الكزانتان

أُجري اختبار Bonferroni للفروق الثنائية المتعددة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصدر الكربون، لمعرفة أفضل مصدر للكربون من حيث مردودية إنتاج صمغ الكزانتان، حيث احتل مولاس الشوندر السكري المرتبة الأولى كأفضل مصدر للكربون معنوياً ($P \leq 0.05$)، وتفوق وبمقدار بسيط في الإنتاج على السكروز الذي احتل المرتبة الثانية، وأُدرج مصل اللبن في المرتبة الثالثة كأفضل مصدر للكربون في إنتاج صمغ الكزانتان، ويبين الجدول (22) نتائج اختبار Bonferroni للفروق الثنائية المتعددة في إنتاج صمغ الكزانتان.

جدول 22 اختبار Bonferroni للفروق الثنائية المتعددة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصدر الكربون.

نوع مصدر الكربون (I)	نوع مصدر الكربون (J)	فروق المتوسط (I-J)	الخطأ المعياري	Sig.	مستوى الثقة 95%	
					الحد الأدنى	الحد الأعلى
1	3	.3587*	.07606	.000	.1658	.5515
	2	-.0933-	.07606	.688	-.2862-	.0995
2	1	.0933	.07606	.688	-.0995-	.2862
	3	.4520*	.07606	.000	.2591	.6449
3	1	-.3587*	.07606	.000	-.5515-	-.1658-
	2	-.4520*	.07606	.000	-.6449-	-.2591-
*الاختلافات معنوية على مستوى ثقة 0.05%.						

5.4.1.2. نتائج تأثير اختلاف مصادر النتروجين في إنتاج صمغ الكزانتان:

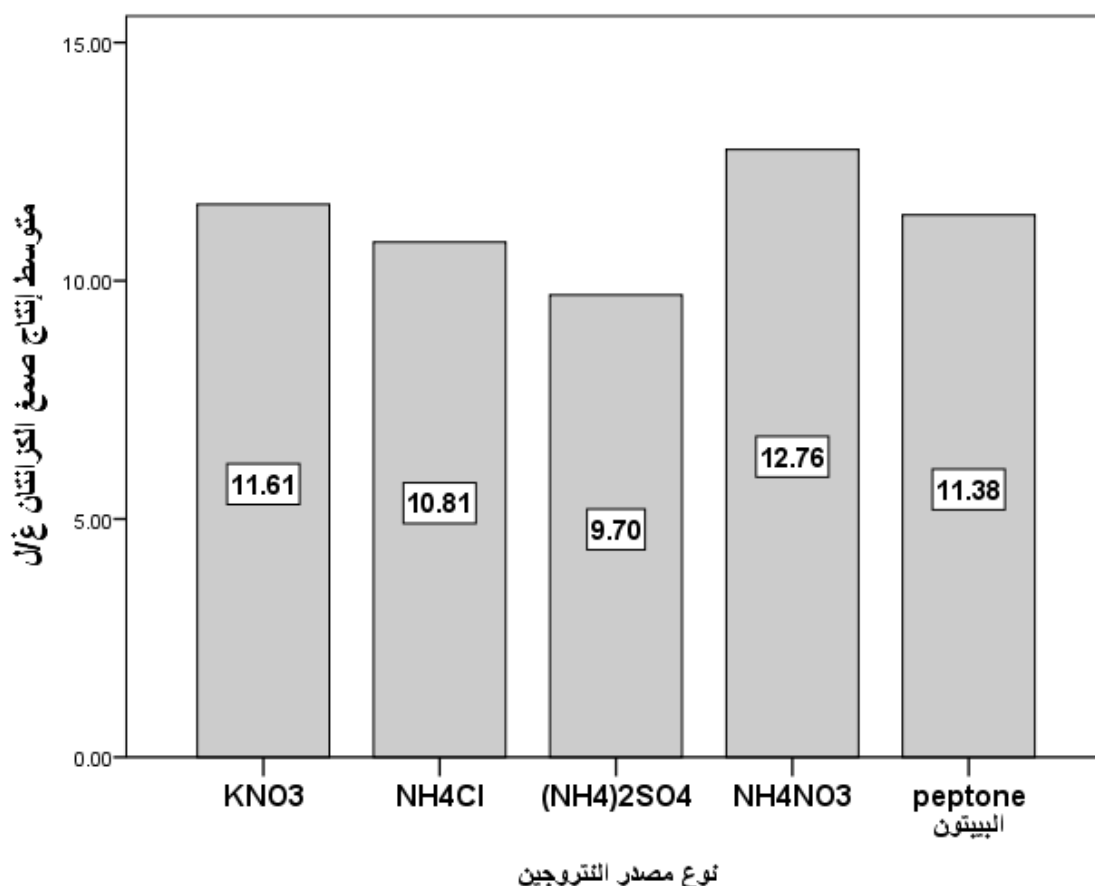
5.4.1.2. The effect of nitrogen sources on xanthan gum production:

يظهر من خلال نتائج اختبار Bonferroni الإحصائي للفروق الثنائية المتعددة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصدر النتروجين والمبينة في الجدول (23) بأن نترات الأمونيوم (1) كانت أفضل مصدر للنتروجين وبكمية من صمغ الكزانتان قد بلغت حوالي (13.67) غ/ل ($P \leq 0.05$)، ويتفق ذلك مع نتائج دراسة El Enshasy وزملاؤه (2011)، وتليه كل من البيبتون العضوي ونترات البوتاسيوم في المرتبة الثانية من ناحية كمية الإنتاج، حيث تراوح الإنتاج ما بين (11.83-12.25) غ/ل ($P \leq 0.05$)، وتتوافق هذه النتائج مع نتائج أبحاث كل من قاسم وزملاؤه (2005) و Moosavi-Nasab وزملاؤه (2010)، في حين انخفض متوسط إنتاج صمغ الكزانتان إلى (8.62) غ/ل لدى اضافة كبريتات الأمونيوم (4) كمصدر للنتروجين ($P \leq 0.05$)، واعتبر الخيار الأخير لدى انتقائه كمصدر للنتروجين، وهذا يتعارض مع نتائج دراسة Murad وزملاؤه (2017) التي أوضحت بأن كبريتات الأمونيوم تأتي في المرتبة الثانية كمصدر للنتروجين لدى إنتاج صمغ الكزانتان، وفي ضوء هذه النتائج، أنتخبت نترات الأمونيوم كأفضل مصدر للنتروجين حيث أستخدمت فيما بعد ضمن تجارب أمثلة ظروف إنتاج صمغ الكزانتان.

يُفسر تفوق نترات الأمونيوم عن غيرها من مصادر النتروجين الأخرى، في قدرتها على تزويد كل من الكائنات الحية الدقيقة ووسط التخمر بالنتروجين على مرحلتين وبشكلين كيميائيين مختلفين، حيث يتمثل الشكل الأول بالنترات التي تُستهلك بشكل مباشر من قبل بكتيريا *Xanthomonas*، في حين تعتبر الأميدات الشكل الثاني، التي تتطلب وقتاً إضافياً ليتم استهلاكها من قبل البكتيريا مما تشكل مخزوناً إضافياً للنتروجين في وسط التخمر يُستهلك لدى نفاذ النترات منه، في حين احتل البيبتون العضوي المرتبة الثانية كمصدر للنتروجين إذ يعتبر مصدراً للبروتينات التي تحتاجها البكتيريا سواء كأحماض أمينية أو بيبتيديات تدخل في تركيب خلاياها، أي يساهم في نمو البكتيريا، ولكن لا تعني مساهمته زيادة قدرة البكتيريا على إنتاج صمغ الكزانتان، وتساوت نترات البوتاسيوم الأهمية مع البيبتون العضوي في الأهمية كمصدر للنتروجين، التي توفر النتروجين بصورة نترات وهي الشكل الأسرع استهلاكاً من قبل الأحياء الدقيقة، وقد عمل كل من كلور وكبريتات الأمونيوم على توفير الأميدات في وسط التخمر التي تتطلب فترة أطول للاستهلاك من قبل البكتيريا (قاسم وزملاؤه، 2005؛ Murad et al., 2019)، ويوضح الشكل (9) المنحنى البياني متوسط إنتاج صمغ الكزانتان (غ/ل) باستخدام مصادر مختلفة من النتروجين.

جدول 23 اختبار Bonferroni للفروق الثنائية المتعددة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصدر الفنتروجين.

مستوى الثقة 95%		Sig.	الخطأ المعياري	فروق المتوسط (I-J)	مصدر نوع (J) النتروجين	مصدر نوع (I) النتروجين
الحد الأدنى	الحد الأعلى					
1.4486	.8536	.000	.09819	1.1511 [*]	2	1
2.2453	1.6503	.000	.09819	1.9478 [*]	3	
3.3497	2.7547	.000	.09819	3.0522 [*]	4	
1.6719	1.0770	.000	.09819	1.3744 [*]	5	
1.0942	.4992	.000	.09819	.7967 [*]	3	2
2.1986	1.6036	.000	.09819	1.9011 [*]	4	
-.8536-	-1.4486-	.000	.09819	-1.1511- [*]	1	
.5208	-.0742-	.302	.09819	.2233	5	
-.4992-	-1.0942-	.000	.09819	-.7967- [*]	2	3
1.4019	.8070	.000	.09819	1.1044 [*]	4	
-1.6503-	-2.2453-	.000	.09819	-1.9478- [*]	1	
-.2758-	-.8708-	.000	.09819	-.5733- [*]	5	
-1.6036-	-2.1986-	.000	.09819	-1.9011- [*]	2	4
-.8070-	-1.4019-	.000	.09819	-1.1044- [*]	3	
-2.7547-	-3.3497-	.000	.09819	-3.0522- [*]	1	
-1.3803-	-1.9753-	.000	.09819	-1.6778- [*]	5	
.0742	-.5208-	.302	.09819	-.2233-	2	5
.8708	.2758	.000	.09819	.5733 [*]	3	
1.9753	1.3803	.000	.09819	1.6778 [*]	4	
-1.0770-	-1.6719-	.000	.09819	-1.3744- [*]	1	
*الاختلافات معنوية على مستوى ثقة 0.05%.						



الشكل 9 متوسط مردود إنتاج صمغ الكزانثان (غ/ل) باختلاف مصادر النتروجين

5.4.1.3. نتائج تأثير استخدام مصادر مختلفة من الكربون والنتروجين في إنتاج صمغ الكزانثان:

5.4.1.3. The effect result of Using different sources of carbon & nitrogen on xanthan gum production:

أُجريت دراسة للدلالة على مدى ارتباط نوع كل من مصدر الكربون والنتروجين في إنتاج صمغ الكزانثان، بالاعتماد على تحليل التباين العاملي لاختبار الفروق ANOVA، الذي بين وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في إنتاج صمغ الكزانثان باختلاف مصادر كل من الكربون والنتروجين، ووجود علاقة ارتباط كبيرة بينهما تقدر بـ ($R^2=0.978$) والمبينة من خلال الجدول (24)، وهذا يتوافق مع نتائج دراسة كل من قاسم وزملائه (2005)، و Soleymanpour وزملائه (2018)، حيث كان أفضل إنتاج لصمغ الكزانثان باستخدام كل من مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون و نترات الأمونيوم كمصدر للنتروجين.

جدول 24 تحليل ANOVA لاختبار الفروق العوامل المؤثرة في إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصادر الكربون والنيتروجين.

المتغير	نمط III لمجموع المربعات	درجة الحرية df	مربعات المتوسطات Mean Square	F	المعنوية
الكربون	1.708	2	.854	19.688	.000
النيتروجين	44.975	4	11.244	259.167	.000
الكربون * النيتروجين	12.370	8	1.546	35.640	.000
الخطأ	1.302	30	.043		
الإجمالي المصحح	60.355	44			
a. R Squared = .978 (Adjusted R Squared = .968)					

5.4.2. نتائج دراسة الظروف المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان (أمثلة ظروف إنتاج صمغ الكزانتان):

5.4.2. The optimization of xanthan gum production results:

دُرست ظروف أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان عبر تطبيق تصميم التجارب المتقدم RSM الذي تضمن تنفيذ (30) تجربة تم التعرف من خلالها على أثر كل من العوامل الأربعة المتغيرة (درجة حرارة وسط التخمر، ودرجة حموضة أو pH وسط التخمر، وسرعة الخلط خلال فترة التخمر، والفترة الزمنية لعملية التخمر) في إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام طريقة التخمر بالوسط السائل SmF، وانتقاء أفضلها من حيث مردودية إنتاج صمغ الكزانتان، وبما يتناسب مع كل من السكرز ومولاس الشوندر السكري ومصل اللبن كمصادر للكربون، ونترات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين، ويبين الجدول (25) نتائج الكميات المنتجة من صمغ الكزانتان عبر بكتيريا *X.campestris* حسب التصميم الإحصائي المعتمد في الجدول (17).

جدول 25 الكميات المنتجة من صمغ الكزانتان حسب برنامج التصميم الإحصائي المعتمد RSM.

التجربة	سرعة الخلط دورة/دقيقة	درجة الحموضة	مدة التخمير سا	درجة حرارة الحضن °C	متوسط كمية صمغ الكزانتان غ/ل		
					السكروز	مولاس الشوندر	مصل اللبن
1	200	6	48	30	6.45	6.45	10.69
2	200	6	48	34	10.27	11.37	11.26
3	200	6	72	30	12.80	17.27	12.48
4	200	6	72	34	13.39	14.23	11.49
5	200	8	48	30	11.95	5.84	5.13
6	200	8	48	34	9.28	10.48	5.24
7	200	8	72	30	12.11	15.65	5.43
8	200	8	72	34	12.41	13.78	6.26
9	300	6	48	30	5.83	5.84	8.43
10	300	6	48	34	6.78	6.87	6.37
11	300	6	72	30	9.54	10.26	9.65
12	300	6	72	34	12.31	13.83	11.44
13	300	8	48	30	4.95	4.31	4.88
14	300	8	48	34	5.88	5.42	5.96
15	300	8	72	30	7.56	13.58	5.76
16	300	8	72	34	11.86	14.44	5.12
17	250	7	60	32	11.37	13.40	12.90
18	250	7	60	32	12.28	14.34	12.78
19	250	7	60	32	11.67	13.56	12.86
20	250	7	60	32	11.24	13.83	12.78
21	250	7	60	28	3.95	3.51	10.90
22	250	7	60	36	4.77	5.24	4.24
23	250	7	36	32	2.49	1.84	2.15
24	250	7	90	32	16.28	18.31	17.50
25	250	5	60	32	3.78	3.17	16.62
26	250	9	60	32	6.81	8.41	2.73
27	150	7	60	32	6.82	6.27	10.14
28	400	7	60	32	12.47	11.77	11.88
29	250	7	60	32	11.41	13.79	12.05
30	250	7	60	32	11.46	14.18	12.87

واعتماداً على تحليل البيانات التجريبية الناتجة عن تصميم التجارب المتقدم RSM من خلال استخدام معادلة من الدرجة الثانية التي تربط بين الكمية المنتجة من صمغ الكزانتان (Y) والمتغيرات الأربعة المدروسة في طريقة التخمر $SmF (X_i)$ ، فقد كانت نتائج أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان حسب مصدر الكربون المستخدم وفقاً للتالي:

5.4.2.1. تحديد أفضل نماذج معاملات تصميم تجربة اعتماداً على السكروز كمصدر للكربون:

5.4.2.1. The best experimental design by using sucrose as a carbon source:

أجري تحليل نتائج هذا الجانب من التجارب وفق تحليل الانحدار المتعدد وباستخدام معادلة متعددة الحدود من الدرجة الثانية والتي عُبر عنها وفق مايلي:

$$Y = 15.3 + 0.97A - 0.294B - 2.42C - 0.0110D - 0.0278 A^2 - 0.00035 B^2 + 0.177 C^2 - 0.000047D^2 + 0.00822AB - 0.045AC + 0.00167 AD + 0.0230 BC - 0.000186 CD - 0.00082 BD.$$

حيث:

Y: كمية صمغ الكزانتان المنتج.

(A,B,C,D): عبارة عن ترميز لكل من عوامل المتغيرات الأربع.

(AB, AC, AD, BC, BD, CD, A², B², C², D²): تمثل عوامل مربع المتغيرات والارتباط.

واستناداً إلى اختبار تحليل التباين للفروق ANOVA لنتائج معاملات تصميم التجربة باستخدام السكروز كمصدر للكربون والمقارنات الثنائية بين هذه المعاملات والمبينة في كل من الجدولين (26) و(27)، فقد لوحظ وجود أثر معنوي لكل من العوامل الأربعة المتغيرة في إنتاج صمغ الكزانتان ($P \leq 0.05$)، ويستدل من معامل الانحدار ($R^2 = 0.992$) بأن معادلة الانحدار للعوامل المتغيرة تؤثر بنسبة 99.2% في إنتاجية صمغ الكزانتان، وهذا يتوافق مع نتائج دراسة (Selva Mohan & Babitha, 2010).

جدول 26 تحليل التباين للفروق ANOVA في إنتاج الكزانتان حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على السكرور كمصدر للكربون

ANOVA					
Sig	F	مجموع المتوسطات	درجة الحرية df	مجموع المربعات	البيان
.000	2254.831	9.515	12	114.182	بين المجموعات
		.004	26	.110	داخل المجموعات
			38	114.292	الاجمالي

جدول 27 المقارنات الثنائية لأثر المتغيرات الأربعة في إنتاج صمغ الكزانتان

المتغير	نمط III لمجموع المربعات	درجة الحرية df	مربعات المتوسطات Mean Square	F	المعنوية
المعادلة المصححة	1075.448 ^a	24	44.810	338.203	.000
التقاطع	2441.104	1	2441.104	18424.069	.000
درجة الحرارة A	257.800	3	85.933	648.575	.000
فترة الزمن B	482.518	3	160.839	1213.923	.000
درجة الحموضة C	191.263	3	63.754	481.183	.000
سرعة الخلط D	172.077	3	57.359	432.914	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن AB	4.570	1	4.570	34.488	.000
درجة الحرارة × درجة الحموضة AC	5.221	1	5.221	39.402	.000
درجة الحرارة × سرعة الخلط AD	8.901	1	8.901	67.180	.000
فترة الزمن × درجة الحموضة BC	8.747	1	8.747	66.015	.000
فترة الزمن × سرعة الخلط BD	4.794	1	4.794	36.185	.000
درجة الحموضة × سرعة الخلط CD	9.319	1	9.319	70.336	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × درجة الحموضة ABC	11.262	1	11.262	84.997	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × سرعة الخلط ABD	5.569	1	5.569	42.033	.000
درجة الحرارة × درجة الحموضة × سرعة الخلط ACD	12.844	1	12.844	96.942	.000
فترة الزمن × درجة الحموضة × سرعة الخلط BCD	5.748	1	5.748	43.381	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × سرعة الخلط × درجة الحموضة ABCD	4.089	1	4.089	30.863	.000
الخطأ	8.612	65	.132		
الإجمالي	8933.023	90			
الإجمالي المصحح	1084.060	89			

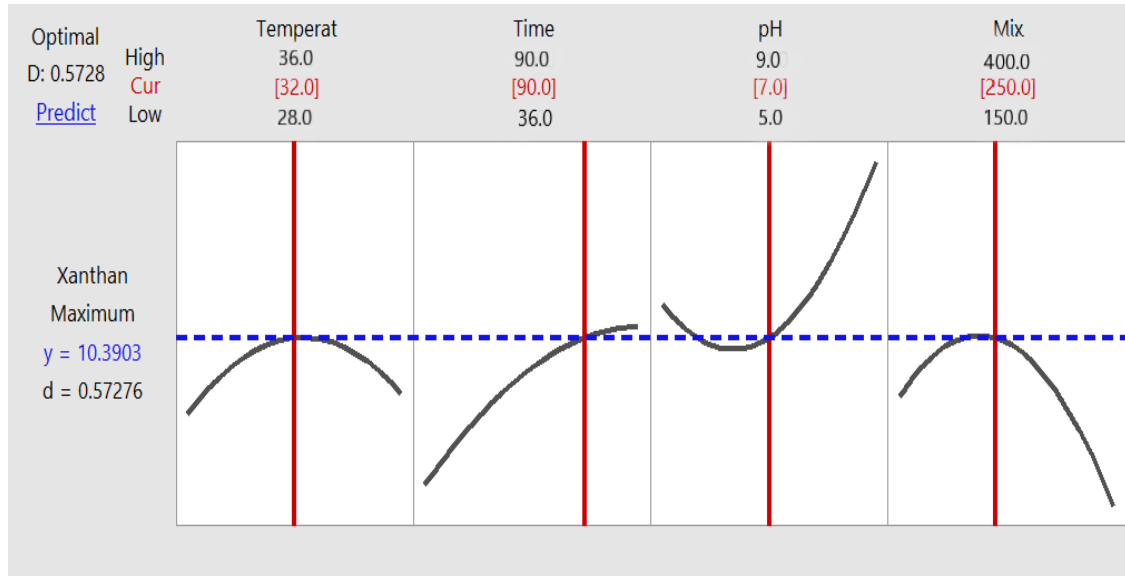
a. R Squared = .992 (Adjusted R Squared = .989)

واستخدم اختبار Bonferroni للمقارنات المتعددة لمعرفة النموذج الأفضل في إنتاج الكزانتان حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على السكروز كمصدر للكربون والموضحة نتائجه ضمن الملحق رقم (2)، حيث تبين بأن أفضل نموذج في إنتاج الكزانتان ($P \leq 0.05$) كان للمعاملة رقم (24) والتي تضمنت كل من درجة حرارة الحضانة (32)°م، والفترة الزمنية للتخمير (90) ساء، ودرجة pH الوسط تعادل (7)، وسرعة خلط (250) د/د، وبأعلى متوسط إنتاج للكزانتان قد بلغ (16.28) غ/ل، ويليهما نموذج المعاملة (4) في المرتبة الثانية من حيث إنتاج الكزانتان والتي تضمنت كل من درجة حرارة الحضانة (34)°م، والفترة الزمنية للتخمير (72) ساء، ودرجة pH الوسط تعادل (6)، وسرعة خلط (200) د/د، وبمتوسط إنتاج قد بلغ (13.39) غ/ل، وأتى في المرتبة الثالثة نموذج المعاملة (3) والتي تضمنت درجة حرارة الحضانة (30)°م، والفترة الزمنية للتخمير (72) ساء، ودرجة pH الوسط تعادل (6)، وسرعة خلط (200) د/د، وبمتوسط إنتاج قد بلغ (12.80) غ/ل، وهذا يتماشى مع نتائج الدراسة المنفذة من قبل Babitha و Selva Mohan (2010) التي أوصت بأن الظروف المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان ترافقت مع درجات حرارة الحضانة كانت ما بين (32-37)°م، ودرجة pH الوسط كانت (7) والفترة الزمنية للتخمير ما بين (48-96) ساء وذلك لدى استخدام السكروز كمصدر للكربون، إضافة إلى نتائج دراسة Murad وزملاؤه (2017) التي أوضحت بأن أعلى إنتاج لصمغ الكزانتان ترافق مع استخدام السكروز كمصدر للكربون في التخمير بالوسط السائل لفترة (96) ساعة ودرجة pH الوسط (7) وفي مجال درجة حرارة تراوح ما بين (28-32) °م وبسرعة خلط (200) د/د، واستبعدت معاملات تصميم التجربة (من أصل 30 تجربة منفذة) التي أعطت إنتاجاً من صمغ الكزانتان يقل عن (7.5) غ/ل، نظراً لكون المردود دون المستوى المطلوب وذلك بالمقارنة مع الكميات الناتجة عن المرحلة الأولية، ورُتبت المعاملات الأفضل من حيث كمية صمغ الكزانتان المنتجة ترتيباً تنازلياً والبالغ عددها (13) معاملة، والمشار إليها ضمن الجدول (28):

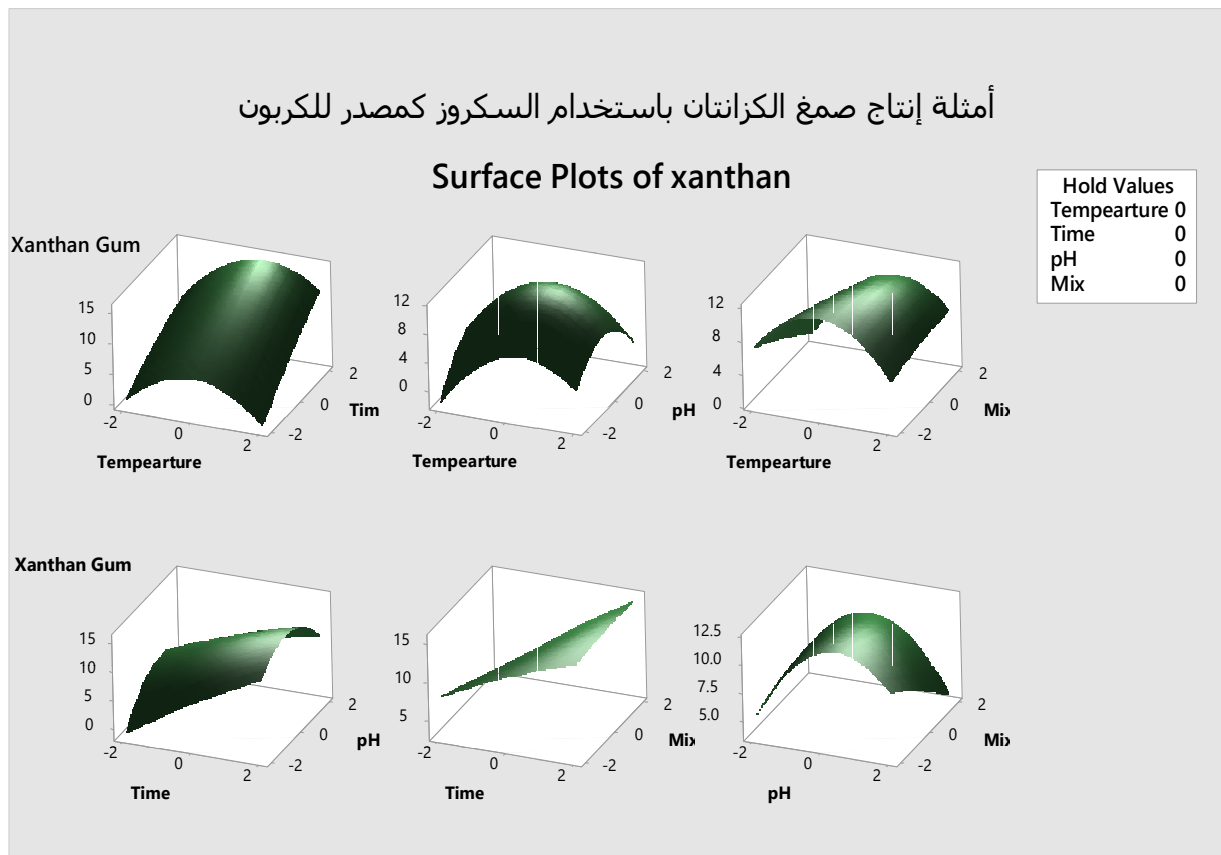
جدول 28 ترتيب معدلات إنتاج الكزانتان تنازلياً حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على السكروز كمصدر للكربون

الترتيب التنازلي حسب كمية إنتاج الكزانتان	الانحراف المعياري Std	متوسط إنتاج الكزانتان غ/ل	البيان
			معاملات تصميم التجربة
1	.07	<u>16.28</u>	24
2	.03	13.39	4
3	.03	12.80	3
4	.01	12.49	29
5	.03	12.47	28
6	.06	12.41	8
7	.05	12.31	12
8	.12	12.10	7
9	.06	11.94	5
10	.08	11.85	16
11	.05	10.27	2
12	.09	9.54	11
13	.04	9.27	6

وأجري بعد ذلك اختبار أمثلة Response optimizer باستخدام البرنامج الإحصائي Minitab، والذي تظهر نتائجه في كل من الشكلين (10) و(11)، والتي تضمنت بأن الظروف المثلى بشكل نظري لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام السكروز كمصدر للكربون هي لدى درجة حرارة الحضانة (32) م°، وفترة التخمير لمدة (96) ساعة ودرجة pH الوسط (7) و سرعة الخلط (250) د/د، وهذه الشروط تماثل ظروف نموذج المعاملة (24)، حيث تُعطي إنتاجاً من صمغ الكزانتان يبلغ (10.39) غ/ل، ولدى تطبيق هذه الظروف بشكل عملي كانت الكمية المنتجة من صمغ الكزانتان أعلى من ذلك، حيث بلغت حوالي (16.28) غ/ل، وهذا يتفق مع (Murad et al., 2017).



الشكل 10 الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانثان باستخدام السكروز كمصدر للكربون.



الشكل 11 أمثلة إنتاج صمغ الكزانثان باستخدام السكروز اعتماداً على RSM

5.4.2.2. تحديد أفضل نماذج معاملات تصميم تجربة اعتماداً على مولاس الشوندر السكر كمصدر للكربون:

5.4.2.2. The best experimental design by using sugar beet molasses as a carbon source:

حُلَّت النتائج لهذا القسم من التجارب وفق تحليل الانحدار المتعدد ووفق معادلة متعددة الحدود من الدرجة الثانية والتي عُبر عنها وفق ما يلي:

$$Y = 13.42 + 0.611 A + 3.724 C + 0.327 B - 0.397 D - 1.821 A^2 - 0.395 C^2 - 1.467 B^2 - 0.660 D^2 - 0.761 AC - 0.108 AB + 0.120 AD + 0.397 BC + 0.182 CD + 0.282 BD.$$

حيث:

Y: كمية صمغ الكزانتان المنتج.

(A,B,C,D): عبارة عن ترميز لكل من عوامل المتغيرات الأربع.

(AB, AC, AD, BC, BD, CD, A², B², C², D²): تمثل عوامل مربع المتغيرات والارتباط.

واعتماداً على اختبار تحليل التباين للفروق ANOVA لنتائج أثر عوامل المتغيرات الأربع في كمية صمغ الكزانتان المنتجة وذلك عند مستوى ثقة ($P \leq 0.05$) والمقارنات الثنائية ما بين هذه المتغيرات، والمبينة في الجدولين (29) و(30)، فقد تبين وجود أثر معنوي لكل من العوامل الأربعة المدروسة في إنتاجية صمغ الكزانتان باستخدام مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون، ويدل معامل الانحدار ($R^2=0.999$) بأن معادلة الانحدار للعوامل المتغيرة كانت مسؤولة عن 99.9 % من مقدار التغير في المردود الناتج من صمغ الكزانتان.

جدول 29 تحليل التباين للفروق ANOVA في إنتاج الكزانتان حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون

ANOVA					
البيان	مجموع المربعات	درجة الحرية df	مربع المتوسط	قيم F	المعنوية
بين المجموعات	288.804	13	22.216	2480.825	.000
داخل المجموعات	.251	28	.009		
الاجمالي	289.055	41			

جدول 30 المقارنات الثنائية بين المتغيرات الأربعة المؤثرة في إنتاج صمغ الكزانتان

المتغير	نمط III لمجموع المربعات	درجة الحرية df	مربعات المتوسطات	F	المعنوية
المعادلة المصححة	1883.756 ^a	24	78.490	1941.191	.000
التقاطع	2601.882	1	2601.882	64349.115	.000
درجة الحرارة A	432.028	3	144.009	3561.601	.000
فترة الزمن B	334.643	3	111.548	2758.769	.000
درجة الحموضة C	1068.182	3	356.061	8806.008	.000
سرعة الخلط D	229.408	3	76.469	1891.224	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن AB	27.816	1	27.816	687.940	.000
درجة الحرارة × درجة الحموضة AC	.559	1	.559	13.825	.000
درجة الحرارة × سرعة الخلط AD	.686	1	.686	16.976	.000
فترة الزمن × درجة الحموضة BC	7.553	1	7.553	186.787	.000
فترة الزمن × سرعة الخلط BD	1.584	1	1.584	39.178	.000
درجة الحموضة × سرعة الخلط CD	3.831	1	3.831	94.740	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × درجة الحموضة ABC	.337	1	.337	8.327	.005
درجة الحرارة × فترة الزمن × سرعة الخلط ABD	52.710	1	52.710	1303.616	.000
درجة الحرارة × درجة الحموضة × سرعة الخلط ACD	2.314	1	2.314	57.239	.000
فترة الزمن × درجة الحموضة × سرعة الخلط BCD	10.528	1	10.528	260.379	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × درجة الحموضة × سرعة الخلط ABCD	3.381	1	3.381	83.628	.000
الخطأ	2.628	65	.040		
الإجمالي	11573.625	90			
الإجمالي المصحح	1886.384	89			
a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .998)					

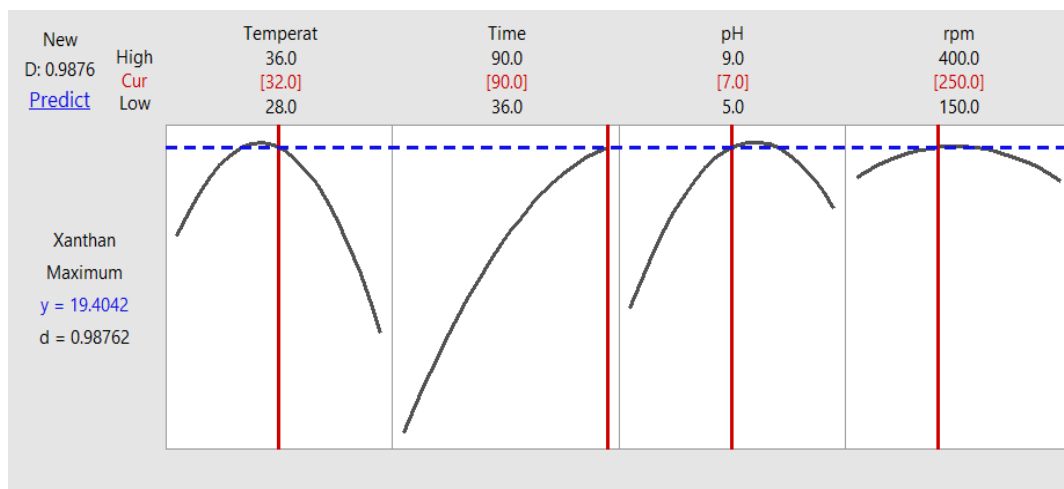
وبعد دراسة نتائج التجارب المنفذة والبالغ عددها 30/ تجربة، واستبعاد معاملات تصميم التجربة التي أعطت كميات ما دون (7.5) غ/ل من صمغ الكزانتان، فقد رُتبت المعاملات الأفضل والتي ترافق معها إنتاج أكبر كمية ممكنة من صمغ الكزانتان ترتيباً تنازلياً، والموضحة ضمن الجدول (31):

جدول 31 ترتيب معدلات إنتاج الكزانتان تنازلياً حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون

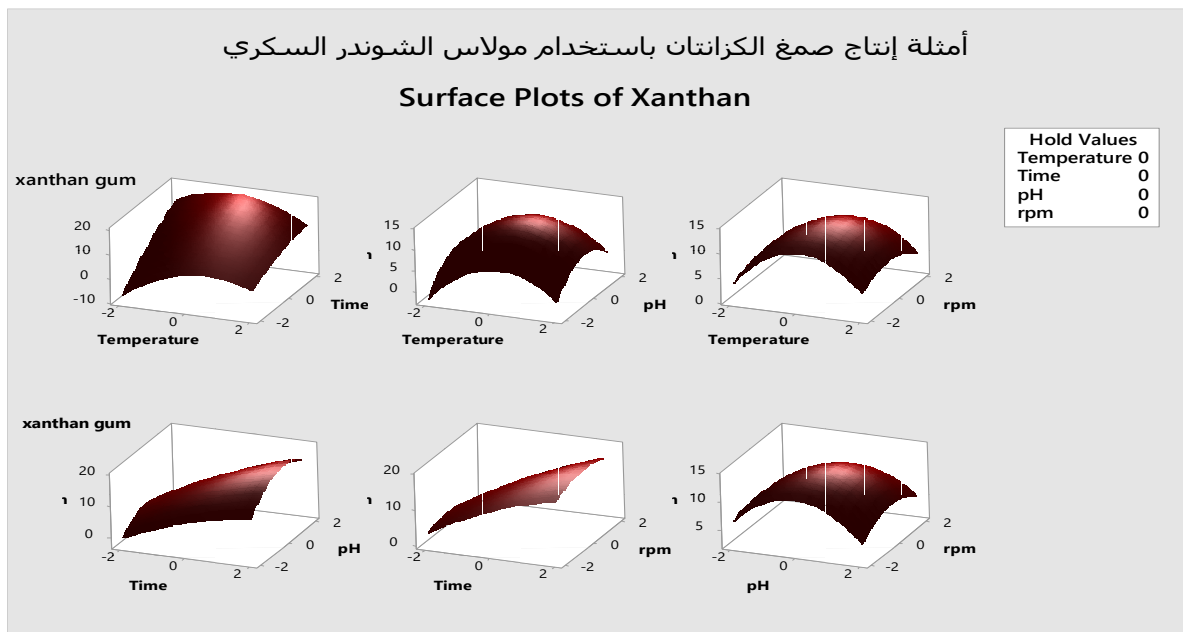
البيان	متوسط إنتاج الكزانتان غ/ل	الانحراف المعياري Std	الترتيب التنازلي حسب كمية إنتاج الكزانتان
24	<u>18.31</u>	.056	1
3	17.27	.03	2
7	15.64	.30	3
16	14.44	.09	4
4	14.22	.02	5
12	13.82	.05	6
8	13.77	.03	7
15	13.58	.04	8
29	13.39	.00	9
28	11.77	.04	10
2	11.37	.03	11
6	10.48	.01	12
11	10.26	.07	13
26	8.41	.04	14

مما تقدم فإن أفضل نموذج في إنتاج الكزانتان قد ترافق مع المعاملة (24) وبشكل معنوي ($P \leq 0.05$)، التي تضمنت كل من درجة حرارة الحضان (32) م°، والفترة الزمنية للتخمير (90) ساء، ودرجة pH الوسط تعادل (7)، وسرعة الخلط (250) د/د، ونتج عنها (18.31) غ/ل من صمغ الكزانتان، وأتى في المرتبة الثانية نموذج المعاملة (3) الذي تضمن تطبيق كل من درجة حرارة الحضان (30) م°، والفترة الزمنية للتخمير (72) ساء، ودرجة pH الوسط (6)، وسرعة الخلط (200) د/د، وبمتوسط إنتاج قد بلغ (17.27) غ/ل من صمغ الكزانتان، ويليه في المرتبة الثالثة نموذج المعاملة (7) مع تطبيق كل من درجة حرارة الحضان (30) م°، والفترة الزمنية للتخمير (72) ساء، ودرجة pH الوسط (8)، وسرعة الخلط (200) د/د، وبمتوسط إنتاج قد بلغ (15.64) غ/ل، وهذه النتائج تتوافق مع نتائج دراسات كل من Shu و Yang (1990)، و Moosavi-Nasab وزملائه (2010).

ويبين كل من الشكل (12) والشكل (13) الشروط المثلى لإنتاج أكبر كمية من صمغ الكزانتان وفق اختبار أمثلة Response optimizer ضمن برنامج Minitab، حيث يظهر أنه في حال طبقت ظروف المعاملة (24) بشكل نظري، فإنها تُعطي إنتاجاً من صمغ الكزانتان يبلغ (19.40) غ/ل، ولدى مقارنة ذلك مع الناحية العملية، فقد كانت الكمية المنتجة قريبة جداً حيث بلغت (18.31) غ/ل باستخدام مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون، وتتفوق هذه النتائج عن نتائج الدراسة المعدة من قبل كل من Moosavi-Nasab وزملائه (2010)، وGomashe وزملائه (2013).



الشكل 12 الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون.



الشكل 13 أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مولاس الشوندر السكري اعتماداً على RSM

5.4.2.3. تحديد أفضل نماذج معاملات تصميم تجربة اعتماداً على مصل اللبن كمصدر للكربون:

5.4.2.3. The best experimental design by using whey as a carbon source:

خلّلت نتائج هذه التجربة بناءً على معادلة متعددة الحدود من الدرجة الثانية والتي عُبر عنها وفق مايلي:

$$Y = 621 - 33.31 A + 0.929 B + 16.5 C + 0.003 D - 0.496 A^2 - 0.00286 B^2 - 1.427 C^2 - 0.00012 D^2 - 0.0203 AB + 0.021 AC - 0.0052 AD + 0.0255 BC + 0.00047 CD + 0.0071 BD.$$

حيث:

Y: كمية صمغ الكزانتان المنتج.

(A,B,C,D): عبارة عن ترميز لكل من عوامل المتغيرات الأربع.

(AB, AC, AD, BC, BD, CD, A², B², C², D²): تمثل عوامل مربع المتغيرات والارتباط.

ويُوضح كل من الجدول (32) والجدول (33) نتائج اختبار تحليل التباين للفروقات ANOVA لأثر عوامل

المتغيرات الأربع في كمية صمغ الكزانتان المنتجة وذلك عند مستوى ثقة ($P \leq 0.05$) والمقارنات الثنائية ما بين

هذه المتغيرات، حيث لوحظ وجود أثر معنوي لكل من عوامل الأربعة المدروسة في إنتاجية صمغ الكزانتان، ويدل

معامل الانحدار ($R^2 = 0.998$) بأن معادلة الانحدار للعوامل المتغيرة تؤثر بنسبة 99.8 % في مقدار التغير في

كمية صمغ الكزانتان المنتج.

جدول 32 تحليل التباين للفروق ANOVA في إنتاج الكزانتان حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على

مصل اللبن كمصدر للكربون

ANOVA					
المعوية	قيم F	مربع المتوسط	درجة الحرية df	مجموع المربعات	البيان
.000	2319.533	13.728	12	164.740	بين المجموعات
		.006	26	.154	داخل المجموعات
			38	164.894	الاجمالي

جدول 33 المقارنات الثنائية لأثر المتغيرات الأربعة في إنتاج صمغ الكزانتان

المتغير	نمط III لمجموع المربعات	درجة الحرية df	مربعات المتوسطات	F	المعنوية
المعادلة المصححة	1439.298 ^a	24	59.971	1774.102	.000
التقاطع	2402.848	1	2402.848	71082.944	.000
درجة الحرارة A	196.253	3	65.418	1935.234	.000
فترة الزمن B	393.191	3	131.064	3877.226	.000
درجة الحموضة C	510.629	3	170.210	5035.280	.000
سرعة الخلط D	90.982	3	30.327	897.168	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن AB	13.042	1	13.042	385.809	.000
درجة الحرارة × درجة الحموضة AC	4.625	1	4.625	136.827	.000
درجة الحرارة × سرعة الخلط AD	10.194	1	10.194	301.556	.000
فترة الزمن × درجة الحموضة BC	.002	1	.002	.063	.802
فترة الزمن × سرعة الخلط BD	18.925	1	18.925	559.866	.000
درجة الحموضة × سرعة الخلط CD	1.300	1	1.300	38.464	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × درجة الحموضة ABC	20.073	1	20.073	593.801	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × سرعة الخلط ABD	3.111	1	3.111	92.032	.000
درجة الحرارة × درجة الحموضة × سرعة الخلط ACD	7.632	1	7.632	225.778	.000
فترة الزمن × درجة الحموضة × سرعة الخلط BCD	29.768	1	29.768	880.606	.000
درجة الحرارة × فترة الزمن × درجة الحموضة × سرعة الخلط ABCD	.116	1	.116	3.433	.068
الخطأ	2.197	65	.034		
الإجمالي	8599.707	90			
الإجمالي المصحح	1441.496	89			

a. R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .998)

تظهر نتائج اختبار Bonferroni لتجارب التصميم الاحصائي المعتمد والمبينة ضمن الملحق رقم (2)، وبعد استبعاد معاملات تصميم التجربة التي تدنى فيها إنتاج صمغ الكزانتان عن (7.5) غ/ل، بأن أفضل نموذج في إنتاج الكزانتان ($P \leq 0.05$) حسب معاملات تصميم التجربة اعتمادا على مصل اللبن كمصدر للكربون كان نموذج المعاملات (24) الذي تضمن البرنامج التالي: درجة حرارة الحضان (32)°م، والفترة الزمنية للتخمير (90)

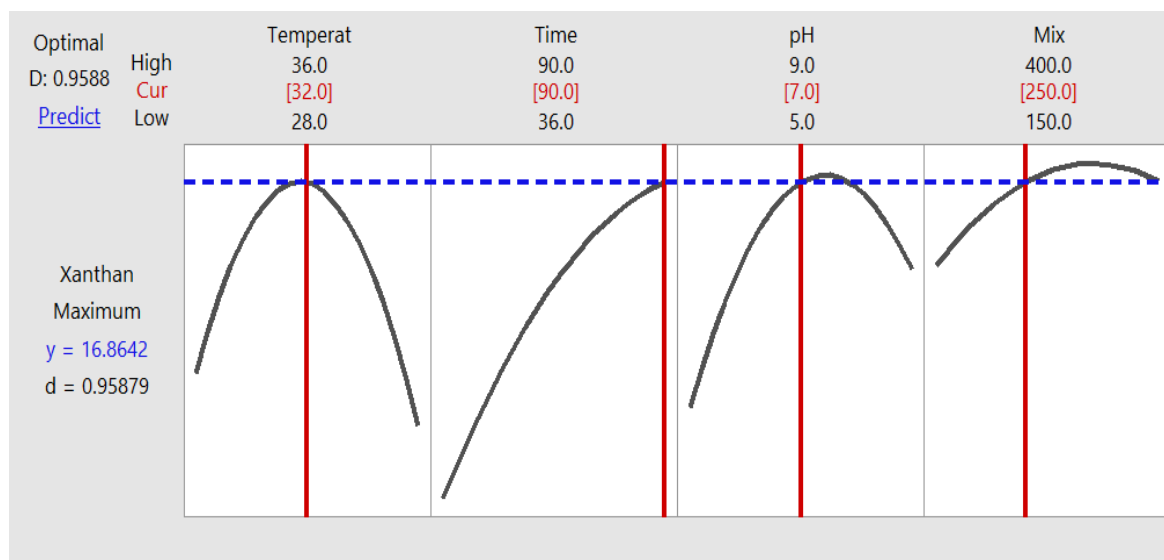
سا، ودرجة pH الوسط تعادل (7)، وسرعة الخلط (250) د/د، وبأعلى متوسط إنتاج قد بلغ (17.49) غ/ل، ويليه في المرتبة الثانية نموذج المعاملات (25) الذي تضمن البرنامج التالي: درجة حرارة الحضان (32)م، والفترة الزمنية للتخمير (60) سا، ودرجة pH الوسط تعادل (5)، وسرعة الخلط (250) د/د، وبمتوسط إنتاج قد بلغ (16.61) غ/ل، ويأتي بعده في المرتبة الثالثة نموذج المعاملات (3) الذي تضمن المعاملات التالية: درجة حرارة الحضان (30)م، والفترة الزمنية للتخمير (72) سا، ودرجة pH الوسط تعادل (6)، وسرعة الخلط (200) د/د، وقد بلغ كمية صمغ الكزانتان المنتجة حوالي (12.48) غ/ل، وهذه النتائج تتوافق مع الدراسة المعدة من قبل Nitschke وزملاؤه (2001)، والتي بينت أنه يمكن لأنواع من بكتيريا *Xanthomonas campestris* استقلاب واستهلاك اللاكتوز كمصدر للكربون في وسط التخمر وإنتاج صمغ الكزانتان بكمية تتراوح ما بين (12، 15) غ/ل بتركيز 4% من اللاكتوز في وسط التخمر، وكذلك الدراسة المعدة من قبل Murad وزملاؤه (2017) التي أوصت بإمكانية استخدام مصل اللبن والجبن كمصدر للكربون في إنتاج صمغ الكزانتان، وذلك بعد إجراء عملية حلمأة حامضية لمصل اللبن قبل إضافته للوسط للمساهمة في إمكانية استهلاك اللاكتوز من قبل بكتيريا *Xanthomonas*.

وبعد استبعاد معاملات تصميم التجربة التي أعطت كميات متدنية من صمغ الكزانتان والتي كانت ما دون (7.5) غ/ل، نظراً لانخفاض الجدوى الاقتصادية لها مقارنة مع نتائج التجربة المرحلية الأولى، فقد رُتبت المعاملات الأفضل والتي ترافق معها إنتاج أكبر كمية ممكنة من صمغ الكزانتان ترتيباً تنازلياً، والموضحة في الجدول (34):

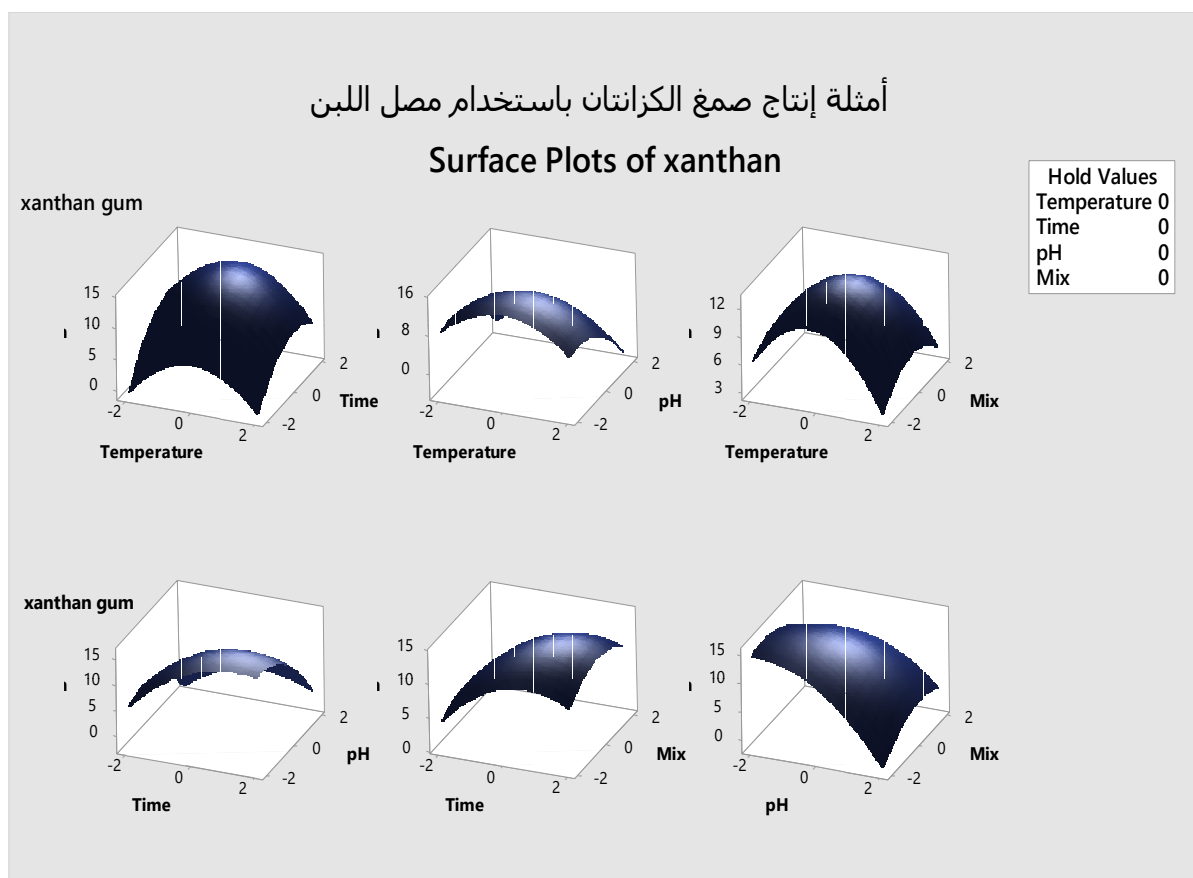
جدول 34 ترتيب معدلات إنتاج الكزانتان تنازلياً حسب معاملات تصميم التجربة اعتماداً على مصل اللبن كمصدر للكربون

الترتيب التنازلي لأهمية المعاملات حسب كمية إنتاج الكزانتان	الانحراف المعياري Std	متوسط إنتاج الكزانتان غ/ل	البيان
			معاملات تصميم التجربة
1	.25	<u>17.49</u>	24
2	.04	16.61	25
3	.03	12.48	3
4	.04	12.04	29
5	.02	11.88	28
6	.01	11.48	4
7	.03	11.44	12
8	.01	11.25	2
9	.03	10.90	21
10	.04	10.69	1
11	.03	10.14	27
12	.02	9.64	11
13	.02	8.42	9

واستناداً إلى اختبار أمثلة Response optimizer في البرنامج الإحصائي Minitab ، الذي يظهر بأن الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مصل اللبن كانت لدى تطبيق معاملات نموذج التجربة (24)، بشكل نظري يُعطي إنتاجاً من صمغ الكزانتان يبلغ حوالي (16.86) غ/ل، وكانت الكمية المنتجة عملياً من صمغ الكزانتان باستخدام مصل اللبن قد بلغت (17.49) غ/ل أي كانت قريبة جداً من المتوقع وأعلى منه بمقدار بسيط، وهذا يتفق مع نتائج كل من Murad وزملائه (2017) و Nitschke وزملائه (2001) و Kawahara وزملائه (1998)، ويوضح كل من الشكل (14) و (15) أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مصل اللبن كمصدر للكربون.



الشكل 14 الشروط المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مصّل اللبن كمصدر للكربون.



الشكل 15 أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان باستخدام مصّل اللبن اعتماداً على RSM

وبناء على المعطيات التي تم التوصل إليها في الفقرات السابقة والتي أشارت إلى معاملات تصميم التجربة المثلى لكل من المصادر الكربون الثلاث المستخدمة (السكروز، مولاس الشوندر السكري، مصل اللبن) من حيث كمية إنتاج صمغ الكزانتان، يُظهر الجدول (35) أفضل (6) معاملات يمكن تطبيقها لإنتاج صمغ الكزانتان باختلاف مصادر الكربون.

جدول 35 تحليل التباين ANOVA للفرق بين معدلات إنتاج صمغ الكزانتان المثلى وفق معاملات تصميم التجربة تبعاً لمصادر الكربون الثلاث

معاملات تصميم التجربة المثلى	متوسط إنتاج الكزانتان حسب مصدر الكربون (غ/ل)			Sig	النتيجة عند مستوى دلالة 0.05 ($P \leq 0.05$)
	السكروز	الشوندر السكري	مصل اللبن		
24	16.28	18.31	17.50	0	يوجد فرق دال إحصائياً
4	13.39	14.23	11.49	0	يوجد فرق دال إحصائياً
3	12.80	17.27	12.48	0	يوجد فرق دال إحصائياً
29	12.49	13.39	12.05	0	يوجد فرق دال إحصائياً
12	12.31	13.83	10.90	0	يوجد فرق دال إحصائياً
2	10.27	11.37	11.26	0	يوجد فرق دال إحصائياً

وتكملةً للجدول أعلاه، فقد طُبقت المقارنات الثنائية المتعددة وفق اختبار Bonferroni لكل من المعاملات المثلى، في سبيل انتخاب مصدر الكربون الأمثل من حيث كميات إنتاج الكزانتان عند كل معاملة من معاملات التجربة الست المثلى أعلاه، إذ رُتبت أهم معاملات التجربة ومصادر الكربون من حيث متوسط كمية صمغ الكزانتان المنتجة وفق الجدول (36)، الذي يبين بأن كمية صمغ الكزانتان تتناقصت على التوالي حسب ترتيب مصادر الكربون (مولاس الشوندر السكري، مصل اللبن، السكروز).

جدول 36 ترتيب أهم معاملات التجربة ومصادر الكربون من حيث متوسط كمية إنتاج صمغ الكزانتان.

المرتبة حسب كمية الإنتاج	متوسط إنتاج الكزانتان حسب مصدر الكربون (غ/ل)			معاملات تصميم التجربة المثلى
	مصل اللبن	الشوندر السكري	السكروز	
1	17.50	18.31	16.28	24
	2	1	3	المرتبة
3	11.44	14.23	13.39	4
	3	1	2	المرتبة
2	12.48	17.27	12.80	3
	3	1	2	المرتبة
5	12.05	13.39	12.49	29
	3	1	2	المرتبة
4	10.90	13.83	12.31	12
	3	1	2	المرتبة
6	11.26	11.37	10.27	2
	2	1	3	المرتبة

5.4.2.4. تأثير درجة حرارة الحضانة في إنتاج صمغ الكزانتان:

5.4.2.4. Effect of fermentation temperature on xanthan gum yield:

أثبت اختبار تحليل التباين للفروق ANOVA وجود أثر معنوي لعامل درجة حرارة الحضانة في إنتاج صمغ الكزانتان، ويوضح الجدول (37) نتائج تحليل ANOVA لاختبار أثر درجة الحرارة، ومن خلال المقارنات الإحصائية المطبقة لدراسة أثر عامل تغير درجة حرارة الحضانة وذلك ضمن المستويات الخمسة المنتقاة لدرجة حرارة الحضانة، فقد تبين بأن درجة حرارة الحضانة المثلى ($P \leq 0.05$) والتي ترافق معها أعلى إنتاج لصمغ

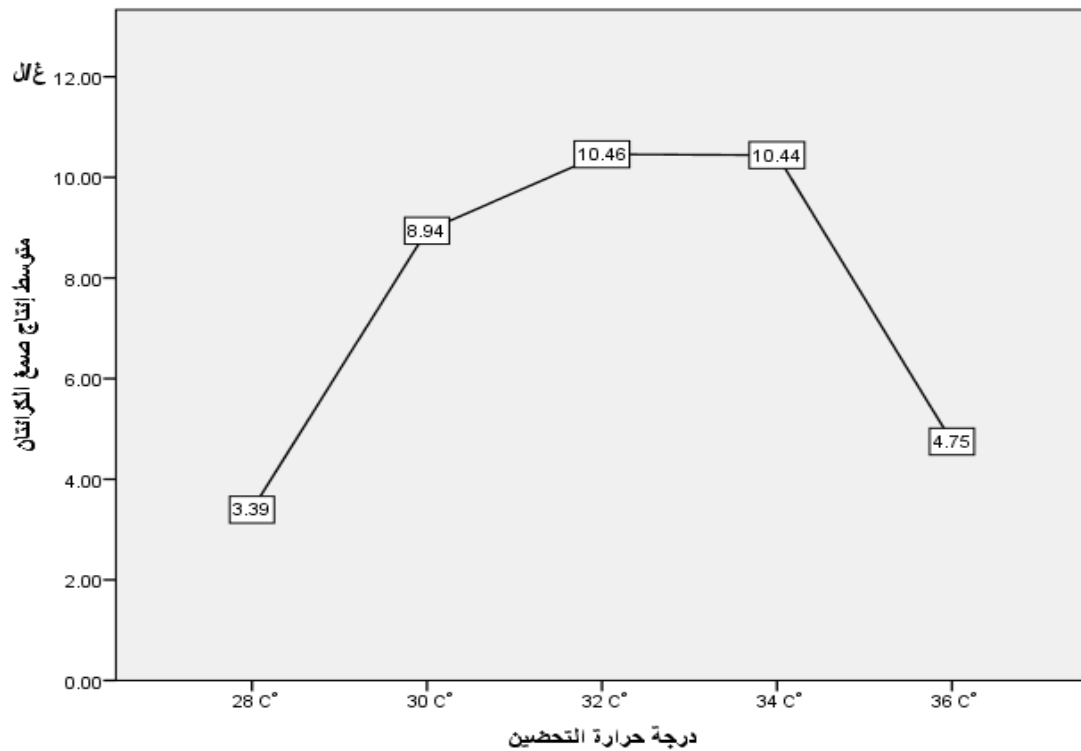
الكرزانتان كانت عند المجال الحراري ما بين (30-34) م°، وبكمية إنتاج تراوحت ما بين (8.94-10.44) غ/ل، في حين استبعدت كل من درجتي حرارة الحضان (28) م° و (36) م° من مناقشة النتائج، نظراً لانخفاض مردودهما من صمغ الكرزانتان إلى ما دون 7 غ/ل، وتتوافق هذه النتائج مع نتائج أبحاث كل من Shu و Yang (1990)، و Esgalhado وزملائه (1995)، و Mudoi وزملائه (2013).

جدول 37 تحليل ANOVA لاختبار تأثير درجة حرارة الحضان في إنتاج صمغ الكرزانتان.

ANOVA					
المعنوية	F قيم	مربع المتوسط	درجة الحرية df	مجموع المربعات	البيان
0.000	13.061	181.347	4	725.388	بين المجموعات
		13.885	265	3679.401	داخل المجموعات
			269	4404.789	الاجمالي

يُفسر تأثير إنتاج صمغ الكرزانتان بعامل درجة حرارة الحضان المطبقة خلال عملية التخمير، إلى تأثير نشاط بكتيريا *Xanthomonas* بدرجة حرارة الوسط النامية فيه، إذ يزداد نشاط هذه الأحياء الدقيقة مع ارتفاع درجة حرارة الوسط المحيط، مع الإشارة إلى أن هذا التزايد ليس بتزايد مطرد بل يتم ضمن مجال محدود من درجات الحرارة، ويترافق مع ازدياد نشاط بكتيريا *X.campestris* زيادة في الناتج من كمية صمغ الكرزانتان، نظراً لازدياد معدل استهلاك الكتلة الحيوية للسكريات الموجودة في وسط التخمير وتحويلها إلى الصمغ (Naqvi et al., 2013)، ويقع المجال الأمثل لنمو بكتيريا *X.campestris* ونشاطها ضمن المجال الحراري (28-34) م°، ولدى ارتفاع درجة الحرارة عن حدود درجة الحرارة (34) م°، فإن هذا الارتفاع يدفع بنشاط الكتلة الحيوية نحو التباطؤ والتوقف، وفي حال استمرت درجات الحرارة في الارتفاع مع مرور الوقت فإن الكتلة الحيوية تتعرض للتماوت، مما ينعكس سلباً في إنتاج صمغ الكرزانتان (Manjunath, 2012; Szczesny et al., 2010).

ويبين الشكل رقم (16) المنحنى البياني لتأثير درجة حرارة وسط التخمير في متوسط إنتاج صمغ الكرزانتان.



الشكل 16 تأثير عامل درجة حرارة الحضان في إنتاج صمغ الكزانثان.

5.4.2.5. تأثير الفترة الزمنية لعملية التخمير في إنتاج صمغ الكزانثان:

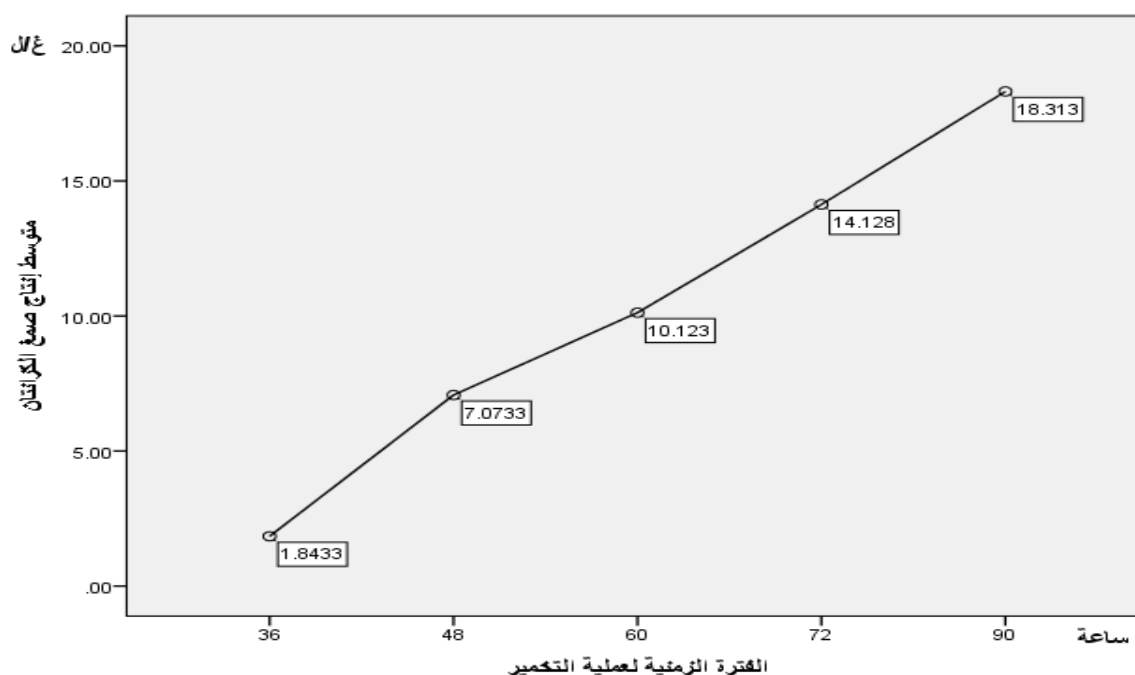
5.4.2.5. Effect of fermentation time on xanthan gum yield:

لوحظ من خلال تطبيق الفترات الزمنية الخمس لعملية التخمير وجود دلالة معنوية على مستوى الثقة ($P \leq 0.05$) في كمية صمغ الكزانثان المنتجة، ويوضح ذلك الجدول (38) الخاص بتحليل التباين ANOVA لأثر عامل الفترة الزمنية لعملية التخمير في إنتاج صمغ الكزانثان، مع العلم إلى أنه قد استبعدت فترة الزمنية لعملية التخمير (36) ساعة نظراً لتدني مردودها من إنتاج من صمغ الكزانثان إلى (1.8) غ/ل، في حين كانت الأزمنة المثلى لفترات عملية التخمير على التوالي كل من (60-72-90) ساعة، مع متوسط انتاج من صمغ الكزانثان قد بلغ ما بين (10.12-18.31) غ/ل، واحتلت الفترة الزمنية (48) ساعة المرتبة الأخيرة ضمن فترات التحضين الأربع الأخرى، وتتوافق هذه النتائج مع نتائج بحث كل من El Enshasy وزملائه (2011)، و Moosavi-Nasab وزملائه (2010).

جدول 38 تحليل ANOVA لاختبار تأثير الفترة الزمنية لعملية التخمير في إنتاج صمغ الكزانتان.

ANOVA					
البيان	مجموع المربعات	درجة الحرية df	مربع المتوسط	قيم F	المعنوية
بين المجموعات	1989.412	4	497.353	54.566	.000
داخل المجموعات	2415.377	265	9.115		
الإجمالي	4404.789	269			

ويُفسر ازدياد معدل إنتاج صمغ الكزانتان مع ازدياد الفترة الزمنية لعملية التخمير بأن عملية إنتاج صمغ الكزانتان تنقسم إلى مرحلتين، المرحلة الأولى وتتخللها مرحلة نمو الكتلة الحيوية وازدياد عددها، والمرحلة الثانية تتضمن عملية إنتاج صمغ الكزانتان، وعليه لابد من توفير الوقت الكافي والمناسب لكي تتم هاتين المرحلتين على أكمل وجه وبالشكل الصحيح (Manjunath, 2012; Carignatto et al., 2011)، ومن خلال الشكل (17) يتبين لنا وجود علاقة طردية ما بين زيادة الفترة الزمنية لعملية التخمير وكمية صمغ الكزانتان المنتجة، وهذا يتفق مع نتائج الدراسة المعدة من قبل Mossavi-Nasab وزملاؤه (2010)، والدراسة المعدة من قبل Kassim (2011).



الشكل 17 تأثير عامل الفترة الزمنية لعملية التخمير في إنتاج صمغ الكزانتان.

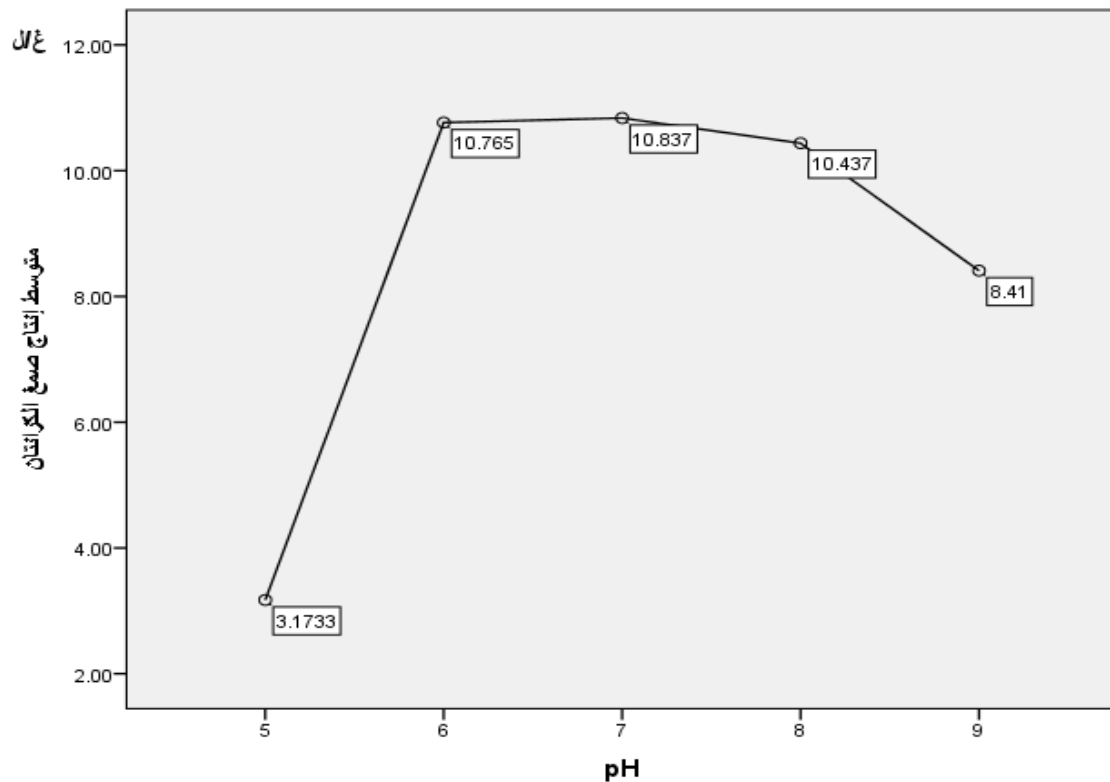
5.4.2.6. تأثير درجة حموضة الوسط (pH) في إنتاج صمغ الكزانتان:

5.4.2.6. Effect of pH degree on xanthan gum yield:

تبين من خلال إجراء المقارنات الإحصائية لدراسة أثر عامل تغير درجة pH في إنتاجية صمغ الكزانتان وجود فروق معنوية على مستوى ثقة ($P \leq 0.05$)، والموضح في الجدول (39) الخاص بتحليل التباين ANOVA، حيث كانت درجة pH (7) الدرجة المثلى ($P \leq 0.05$) مقارنة مع بقية الدرجات المدروسة، في حين انخفض معدل إنتاج صمغ الكزانتان عند درجة pH (5) لما دون (7) غ/ل في العديد من التجارب المنفذة، ويُفسر ذلك بأن مجال pH المناسب لنمو بكتيريا *X.campestris* يقع في المجال القريب من نقطة التعادل الكهربائي أي ما بين (6-8)، وما ينتج عن ذلك من زيادة في إنتاج صمغ الكزانتان، حيث بلغ متوسط إنتاج صمغ الكزانتان ضمن هذا المجال ما بين (10.76) و(10.43) غ/ل، وتتفق هذه النتائج مع نتائج دراسة كل من Luvielmo وزملاؤه (2016) التي أكدت بأن التغيرات في درجات pH الوسط والانتقال من الوسط الحامضي إلى الوسط القلوي يسبب إجهاداً وضغطاً على خلايا بكتيريا *X.campestris* مما يدفعها للعمل على تشكيل السكريات المتعددة الخارجية ESP بكميات أكبر بدافع حماية الكتلة الحيوية من التقلبات في شروط البيئة المحيطة، إلا أن ارتفاع pH الوسط إلى درجات pH إلى (9) وما فوق، يحدث مفعولاً عكسياً في نشاط الكتلة الحيوية وإنتاج صمغ الكزانتان، يتمثل بالتوقف الكلي لهذين النشاطين، إذ يتأثر التركيب الكيميائي لصمغ الكزانتان بارتفاع قلوية الوسط وتحلله، إلى جانب ذلك فإن انخفاض pH الوسط إلى ما دون (5)، يعيق من عملية تشكل صمغ الكزانتان بشكل كبير ويُخفض إنتاجه نظراً لعدم تمتع بكتيريا *X.campestris* بقدرة التحمل للنمو في وسط شديد الحموضة (Lachke, 2004). ويتضح من خلال الشكل رقم (18) المنحنى البياني لتأثير تغيرات pH الوسط في متوسط إنتاج صمغ الكزانتان.

جدول 39 تحليل ANOVA لاختبار تأثير درجة pH وسط التخمر في إنتاج صمغ الكزانتان

ANOVA					
البيان	مجموع المربعات	درجة الحرية df	مربع المتوسط	قيم F	المعنوية
بين المجموعات	422.879	4	105.720	7.036	.000
داخل المجموعات	3981.910	265	15.026		
المجموع	4404.789	269			



الشكل 18 تأثير عامل درجة pH الوسط في إنتاج صمغ الكزانتان.

5.4.2.7. تأثير سرعة الخلط في إنتاج صمغ الكزانتان:

5.4.2.7. Effect of mixing speed on xanthan gum yield:

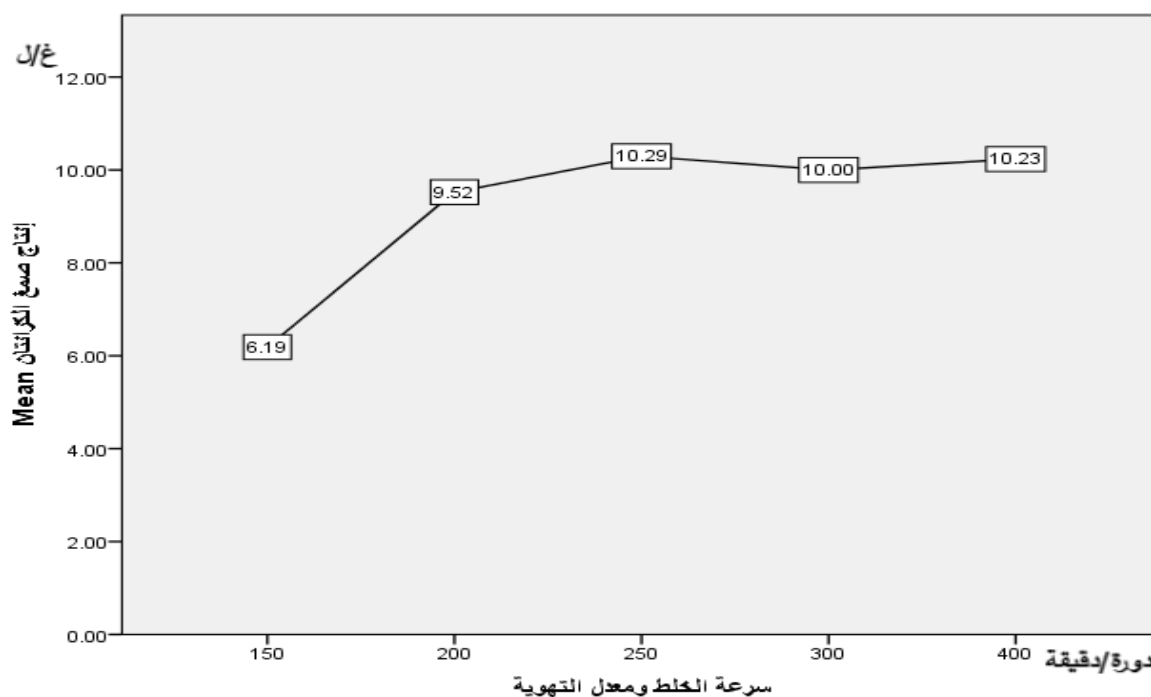
اتضح من خلال الدراسة الإحصائية لنتائج استخدام معدلات مختلفة من سرعة الخلط والتهوية خلال عملية التخمير، وجود فروق معنوية في نتائج كمية إنتاج صمغ الكزانتان باختلاف سرعة الخلط المطبقة وذلك على مستوى الثقة ($P \leq 0.05$)، والمبينة ضمن الجدول رقم (40) الخاص بتحليل التباين ANOVA، وأظهرت النتائج بأن الكمية المنتجة الأعلى من صمغ الكزانتان والبالغة (10.29) غ/ل كانت عند سرعة خلط بمعدل 250 دورة/دقيقة، تلتها في كمية الإنتاج كل من معدلات الخلط الأخرى (200، 300، 400) دورة/دقيقة على التوالي، في حين انخفض معدل إنتاج صمغ الكزانتان إلى ما دون (7) غ/ل لدى سرعة الخلط (150) دورة/دقيقة ($p \leq 0.05$)، وعلى أثره استبعدت من المناقشة، وتتوافق هذه النتائج مع نتائج أبحاث كل من Khosravi-Darani وزملائه (2011)، وDe Jesus Assis وزملائه (2014)، ويُفسر الأثر الإيجابي لزيادة سرعة الخلط في زيادة إنتاج الصمغ إلى توفير كميات أكبر من O_2 في وسط التخمير ليواكب نشاط الكتلة الحيوية لبكتيريا

Xanthomonas المتزايد وتحفيزها على النمو، مما يسهم في زيادة إنتاج صمغ الكزانتان، إضافة إلى أن ازدياد معدلات الخلط تساهم في تسهيل عملية انتقال المواد المغذية المتوفرة في وسط النمو إلى الخلية البكتيرية عبر غشائها الخلوي، ودفع نشاطها نحو تشكيل الصمغ بكميات أكبر، إلا أن زيادة الحركة إلى ما يزيد عن (500) دورة/دقيقة بسبب ضغطاً ميكانيكياً على خلايا البكتيريا ويحدث فعلاً عكسياً في نشاط البكتيريا وقدرتها على الإنتاج، وهذا ما تؤكدته كل من نتائج أبحاث كل من Papagianni وزملائه (2001)، و Lachke (2004)، و Manjunath (2012)، و Mudoi وزملائه (2013).

جدول 40 تحليل ANOVA لاختبار تأثير سرعة الخلط ومعدل التهوية في إنتاج صمغ الكزانتان

ANOVA					
البيان	مجموع المربعات	درجة الحرية df	مربع المتوسط	قيمة F	المعنوية
بين المجموعات	363.305	4	90.826	5.955	.000
داخل المجموعات	4041.484	265	15.251		
المجموع	4404.789	269			

يوضح الشكل (19) المنحنى البياني لتأثير عامل سرعة الخلط في إنتاج صمغ الكزانتان.



الشكل 19 تأثير عامل سرعة الخلط في إنتاج صمغ الكزانتان

5.4.3. نتائج تقدير الكتلة الحيوية الجافة لبكتيريا *Xanthomonas campestris*:

5.4.3. The cell biomass determination of *X.campestris* bacteria:

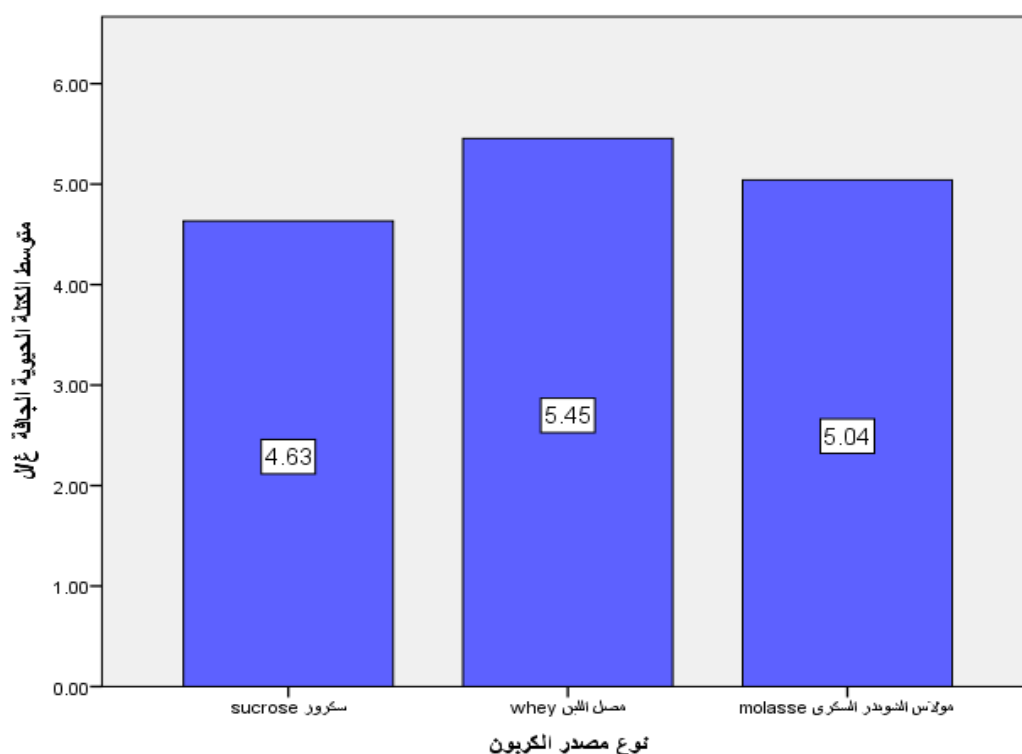
يتبين من خلال الجدول (41) الخاص بتحليل التباين العاملي لاختبار الفروق بين العوامل المؤثرة في تقدير الكتلة الحيوية لبكتيريا *X.campestris* حسب مصادر الكربون والنتروجين، وجود علاقة ارتباط قوية تقدر بـ 93.7% بين الكمية الناتجة من الكتلة الحيوية للبكتيريا ونوع كل من مصدر الكربون ومصدر النتروجين المستخدم في عملية التخمير بالوسط السائل، إضافة إلى وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) في الكتلة الحيوية للبكتيريا وذلك باختلاف المعاملات المطبقة في إنتاج صمغ الكزانتان.

جدول 41 تحليل التباين العاملي لاختبار الفروق بين العوامل المؤثرة في تقدير الكتلة الحيوية لبكتيريا *X.campestris* حسب مصادر الكربون والنتروجين.

المتغير	نمط III لمجموع المربعات	درجة الحرية df	مربع المتوسطات	F	Sig.
معادلة التصحيح	50.024 ^a	14	3.573	31.952	.000
التقاطع	1144.585	1	1144.585	10234.938	.000
الكربون	5.068	2	2.534	22.658	.000
النتروجين	30.169	4	7.542	67.442	.000
الكربون * النتروجين	14.788	8	1.849	16.530	.000
الخطأ	3.355	30	.112		
الإجمالي	1197.964	45			
الإجمالي المصحح	53.379	44			
a. R Squared = .937 (Adjusted R Squared = .908)					

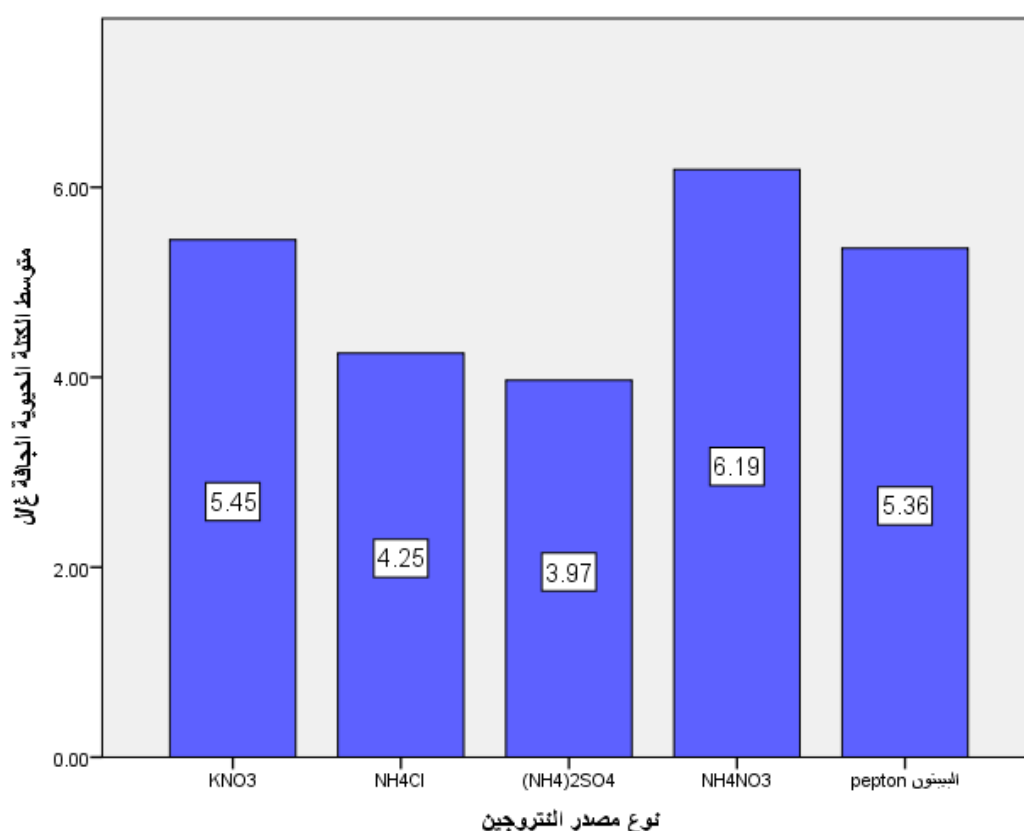
إذ بلغ أعلى معدل للكتلة الحيوية الجافة لبكتيريا *X.campestris* قيمة (5.45) غ/ل لدى استخدام مصل اللبن كمصدر للكربون، ولدى استخدام مولاس الشوندر السكري كانت كمية الكتلة الحيوية الناتجة (5.04) غ/ل، في حين لوحظ انخفاض الكتلة الحيوية للبكتيريا لدى استخدام السكروز إلى ما يقارب (4.63) غ/ل، ويوضح الشكل (20) المنحنى البياني لتأثير مصدر الكربون في ناتج الكتلة الحيوية الجافة لبكتيريا *X.campestris*، ويُفسر

النمو المتزايد للبكتيريا بحضور مصل اللبن كمصدر للكربون، لغناه بالمواد المغذية اللازمة لنمو الخلية الحية وتحفيز نموها وأهمها البروتينات التي تتوفر فيه بنسب ما بين 0.8-1% وبعضاً من الأحماض العضوية مثل حمض اللبن وبعض الأملاح المعدنية والفيتامينات والتي تساهم في دفع البكتيريا ضمن منحني النمو نحو المرحلة الآسية التي تكون في الفترة الزمنية الأولى من عملية التخمر (24 ساعة الأولى)، وما ينعكس عن النمو زيادةً في الكتلة الحيوية للبكتيريا (Ghazal et al., 2011)، وشابهت آلية عمل مولاس الشوندر السكري آلية عمل مصل اللبن في تأمين العناصر المعدنية التي تساعد في تحفيز البكتيريا على النمو، في حين اعتمد السكر كمصدر لتوفير الكربون تستفيد منه بكتيريا *Xanthomonas* في إنتاج صمغ الكزانتان، وهذا يتوافق مع نتائج دراسة Khosravi-Darani وزملائه (2011)، في حين هذه النتائج لا تتوافق مع ما خلصت إليه دراسة قاسم والجادر (2012) التي بينت بأن الكتلة الحيوية لبكتيريا *X.campestris* قد انخفضت لدى استخدام مصل اللبن كمصدر للكربون مقارنة مع غيره من المصادر الكربونية التي تحتوي على السكر، نظراً لعدم قدرتها على استغلال سكر اللاكتوز بالشكل الأمثل مقارنة مع نظائره من السكريات كمصدر للكربون.



الشكل 20 تأثير مصدر الكربون في ناتج الكتلة الحيوية الجافة لبكتيريا *X.campestris*

إضافة إلى ما سبق، فقد تبين وجود أثر معنوي لاختلاف مصادر النتروجين المستخدمة في ناتج الكتلة الحيوية المقدر لبكتيريا *X.campestris* ($P \leq 0.05$)، حيث ظهر أعلى معدل لناتج الكتلة الحيوية للبكتيريا لدى استخدام نترات الأمونيوم كمصدر للنتروجين وذلك بكمية (6.19) غ/ل، في حين احتل كل من نترات البوتاسيوم والبيبتون المرتبة الثانية في الكمية الناتجة من الكتلة الحيوية للبكتيريا وذلك بكمية (5.45) و(5.36) غ/ل على التوالي، ويتوافق ذلك مع نتائج Khosravi-Darani وزملائه (2011)، و El Enshasy وزملائه (2011)، ويوضح الشكل (21) تأثير اختلاف مصدر النتروجين في تقدير الكتلة الحيوية الناتجة لبكتيريا *X.campestris*.



الشكل 21 تأثير اختلاف مصدر النتروجين في تقدير الكتلة الحيوية الناتجة لبكتيريا *X.campestris*.

ولدى دراسة نتائج تصميم التجارب الإحصائي لعملية أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان والتي تضمنت أثر كل من عامل درجة حرارة التحضين وعامل الفترة الزمنية للتخمير ودرجة pH الوسط وسرعة الخلط والتهوية في إنتاج صمغ الكزانتان، تم التطرق إلى احتساب الكتلة الحيوية لكل تجربة من التجارب المنفذة، حيث بينت الدراسة بأن نموذج التجربة (24) كان الأفضل من ناحية الكمية المنتجة من صمغ الكزانتان والكتلة الحيوية الجافة لبكتيريا

X.campestris ($P \leq 0.05$)، حيث تراوحت كمية الكتلة الحيوية الجافة للبكتريا ما بين (14.95) غ/ل باستخدام مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون، و(12.63) غ/ل لدى استخدام مصل اللبن كمصدر للكربون، و(10.39) غ/ل لدى استخدام السكروز كمصدر للكربون، وذلك ضمن ظروف عملية التخمير التي تضمنت درجة حرارة التحضين (32) م، وفترة التخمير مدة (90) ساعة، ودرجة pH الوسط (7)، وسرعة الخلط (250) د/د، وتوافقت هذه النتائج مع نتائج الأبحاث لكل من El Enshasy وزملائه (2011)، و Selva و Babitha و Mohan (2010).

5.4.4. نتائج التأكد من هوية ونقاوة صمغ الكزانتان:

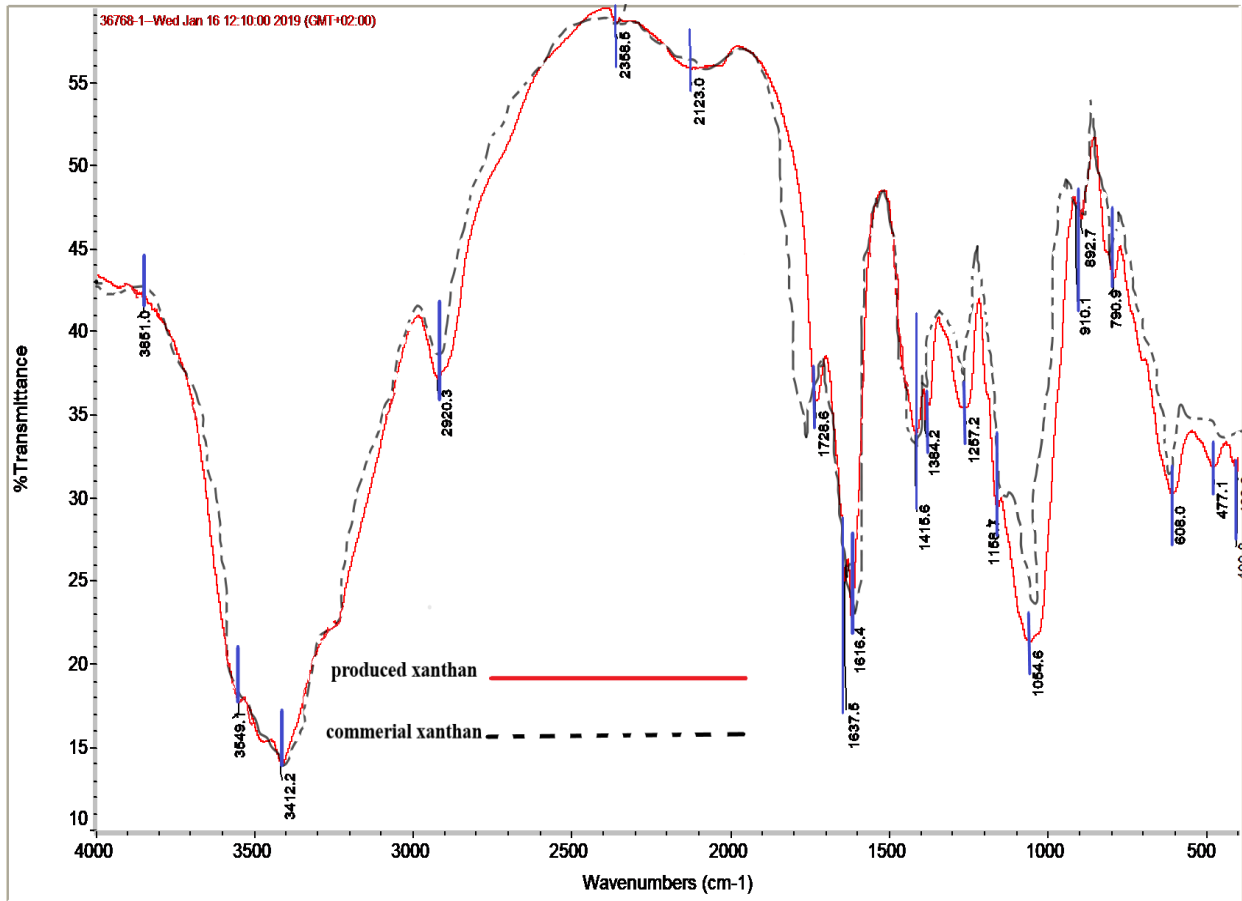
5.4.4. The ensuring results of xanthan gum identity and purity:

أظهرت عينات صمغ الكزانتان الناتج عن المعاملات السابقة وجوداً للعديد من المجموعات الوظيفية التي تميزه عن غيره من المركبات الكيميائية، والموضحة ضمن المخطط الطيفي Spectrum الخاص بصمغ الكزانتان (الشكل 22) باستخدام تقنية تحويل فورييه لأشعة تحت الحمراء (FT-IR) للتأكد من نقاوته وتركيبه، وذلك ضمن المجال الطيفي الممتد ما بين أطوال الموجة (4000، 400) سم⁻¹، حيث تضمنت هذه المجموعات وجود كل من المجموعة الهيدروكسيلية Hydroxyl group (-OH) وذلك في المجال الطيفي ما بين (3412.2-3851.0) سم⁻¹، المجموعة الكربونيلية Carbonyl group (C=O) وذلك في المجال الطيفي ما بين (1616.4 - 1726.6) سم⁻¹، المجموعة الكربوكسيلية Carboxyl group (COOH) وذلك في المجال الطيفي ما بين (1257.2 - 1415.6) سم⁻¹، مجموعة الأستيل Acetal group (CH₃CO) وذلك في المجال الطيفي عند (1056.4) سم⁻¹ و(2920.3) سم⁻¹، مع الإشارة إلى أن زيادة تواجد المجموعات الاستيلية في التركيب الكيميائي لصمغ الكزانتان تساهم في زيادة قابليته للاندخال بشكل أسهل مما يزيد من مجالات استخدامه في التطبيقات الصناعية (Niknezhad et al., 2015)، كما دل وجود المجموعات الكربونيلية عند طول الموجة (3400، 2939، 1200، 990) سم⁻¹ على وجود سكريات متعددة (المنطقة المتخصصة بتحديد السكريات المتعددة) والتي تؤكد بأن المادة المحللة هي عبارة عن مادة متعددة السكريات EPSs.

أُجريت مقارنة ما بين صمغ الكزانتان المنتج محلياً وصمغ الكزانتان التجاري، حيث لوحظ تماثل في ظهور القمم في آن واحد أو متقارب جداً لكل من المادتين المقارنتين والموضح في الجدول (42)، وذلك بالرجوع إلى محتويات المكتبة المرافقة للجهاز المستخدم من نوع Nicodom Universal Package وبرنامج التشغيل OPUS بغرض التأكد من المجموعات الوظيفية الدالة على صمغ الكزانتان، ويتوافق ذلك مع ما أورده كل من Bhat وزملائه (2018) و Faria وزملائه (2011).

جدول 42 أطياف المجموعات الوظيفية في صمغ الكزانتان

المجموعة الوظيفية (رقم الموجة : سم ⁻¹)	الهيدروكسيل Hydroxyl	الكربونيل Carbonyl	الكربوكسيل Carboxyl	أستيل Acetyl
الصمغ الناتج Produced Xanthan	3412	1616; 1637; 1728	1415; 1257	1054; 2920
الصمغ التجاري Commercial Xanthan	3426	1611; 1634; 1733	1419; 1254	1053; 2920



الشكل 22 طيف الأشعة تحت الحمراء لصمغ الكزانتان باستخدام تقنية FT-IR

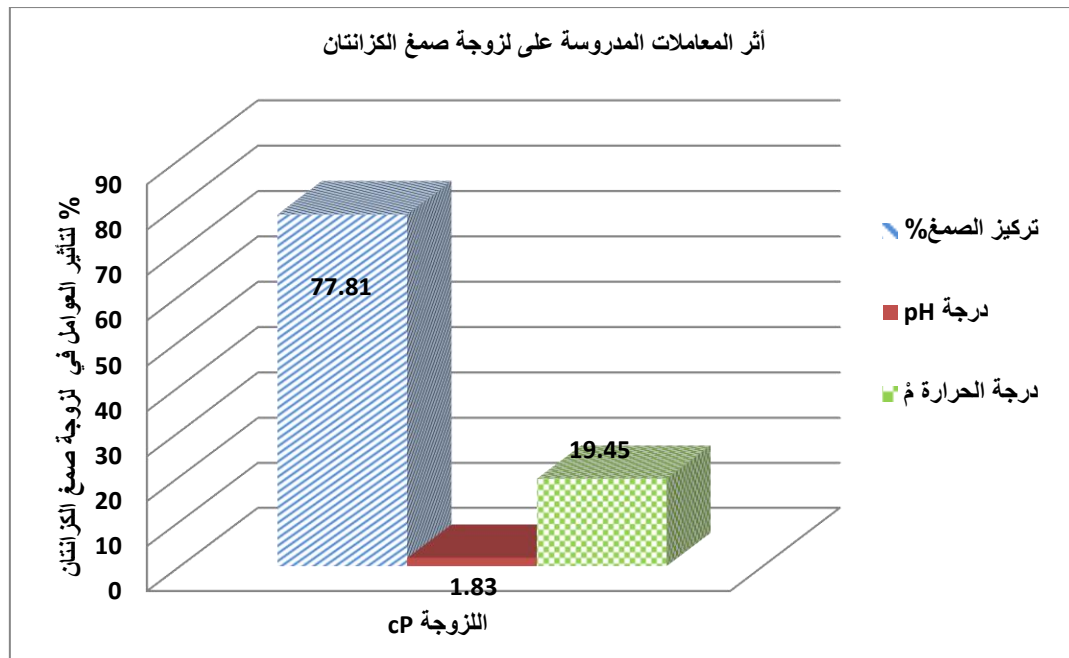
5.5. نتائج دراسة الخصائص الريولوجية لصمغ الكزانتان:

5.5. Rheological characterization for xanthan gum:

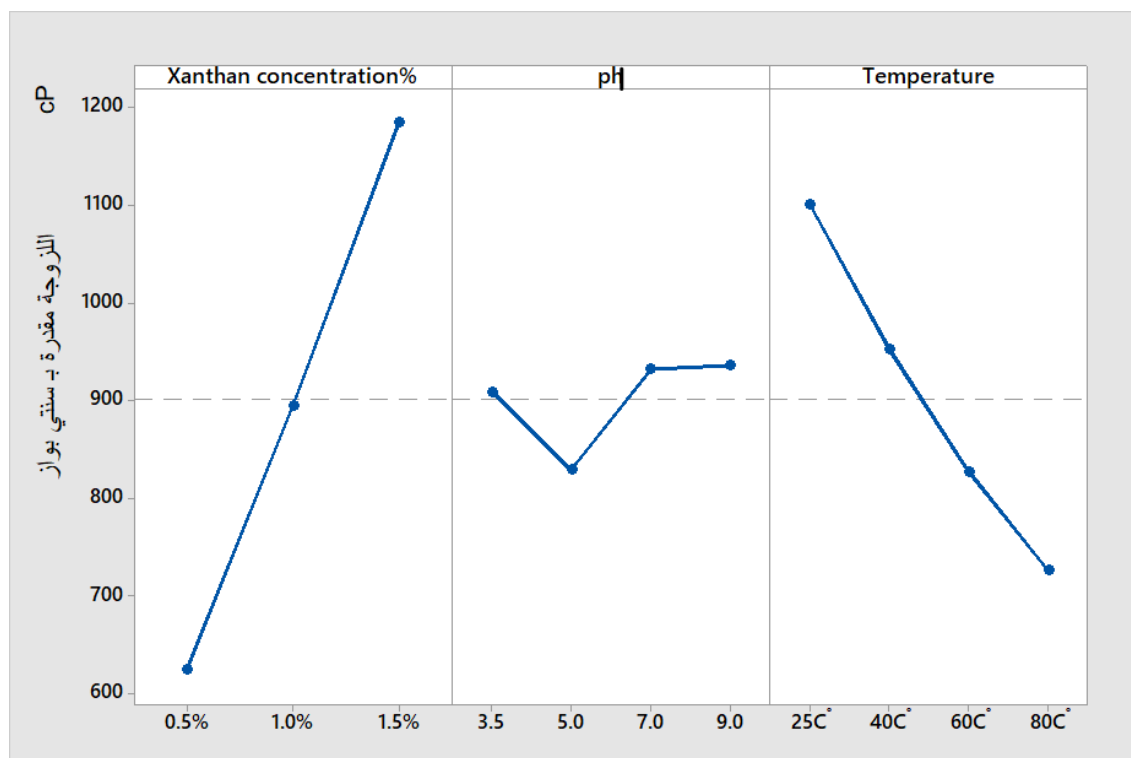
دُرس مدى تأثير السلوك الريولوجي لصمغ الكزانتان المنتج من بكتيريا *X. campestris* باختلاف كل من تركيز صمغ الكزانتان ودرجة الحرارة ودرجة حموضة الوسط (pH)، مقارنةً مع نتائج السلوك الريولوجي لصمغ الكزانتان التجاري، حيث بينت النتائج وجود أثر معنوي ($P \leq 0.05$) لاختلاف تركيز المضاف لصمغ الكزانتان في لزوجة محاليله، ووجود علاقة طردية بينهما، إذ كلما ازداد التركيز المضاف من الصمغ، ازدادت لزوجة المحلول، إذ لوحظ أنه لدى إضافة صمغ الكزانتان بنسبة (1.5)% قد دفعت هذه النسبة إلى رفع قيمة اللزوجة إلى (1501) سنتي بواز (cP)، مقارنة مع النسبة (0.5)% التي انخفضت فيها قيمة اللزوجة إلى (851.5) سنتي بواز (cP)، وذلك عند درجة الحرارة (25) م° ودرجة pH (7)، وهذا يتفق مع نتائج Gumus وزملائه (2010)، وكانت نسبة تأثير عامل نسبة التركيز المضاف من صمغ الكزانتان في لزوجته قد بلغت حوالي 78%، وعليه يعتبر المؤثر

الأول والرئيسي في سلوك لزوجة صمغ الكزانتان، ولدى دراسة أثر عامل اختلاف درجة pH المحاليل المائية لصمغ الكزانتان في لزوجتها، فقد لوحظ عدم وجود فروق معنوية ($P > 0.05$) بين قيم pH المطبقة (3.5، 5، 7، 9) مما يؤكد على تمتع صمغ الكزانتان بالثباتية شبه كلية اتجاه تغييرات درجة حموضة الوسط الذي يُضاف إليه، وهذا يساهم في استخدامه في الأغذية بشكل واسع، ويتفق ذلك مع النتائج التي توصل إليها (Mudoi et al., 2013)، وقد بلغت أعلى قيمة للزوجية لدى درجة pH (7) حوالي (1501) سنتي بواز cP وذلك عند درجة الحرارة (25) م وتركيز (1.5) %، بينما كانت أقل قيمة للزوجية لدى درجة pH (3.5) قد بلغت (399) سنتي بواز cP وذلك عند درجة الحرارة (80) م وتركيز (0.5) %، كان لعامل تغير درجة حرارة محاليل صمغ الكزانتان أثراً معنوياً ($P \leq 0.05$) في اختلاف لزوجة هذه المحاليل، حيث بلغ تأثير تغير درجة الحرارة حوالي (20) %، وكانت درجة الحرارة (25) م الأفضل إحصائياً من حيث اللزوجية، ومع ارتفاع درجة الحرارة وصولاً لدرجة الحرارة (80) م كانت قيم اللزوجية في أدنى معدلاتها، إلا أن هذه الظاهرة كانت ظاهرة عكوسة أي بمجرد انخفاض درجة حرارة المحلول، تعود وترتفع لزوجته من جديد، والسبب في ذلك إلى أن محاليل صمغ الكزانتان تُصنف ضمن السوائل الكاذبة البلاستيكية Pseudo-Plasticity التي تبدي انخفاضاً في اللزوجية الظاهرية لدى تزايد قوى القص والضغط عليها، ومع زوال هذه القوى تعود من جديد إلى حالتها الطبيعية، وتبقى محاليل صمغ الكزانتان محتفظة بهذه الخاصية ضمن المجال الحراري (10، 80) م، وتفقد هذه الخاصية لدى تعرضها لدرجات حرارة خارجة عن حدود هذا المجال الحراري، نتيجة للتغيرات التي تطرأ على مستوى جزئ صمغ الكزانتان (Garcia-Ochoa et al., 2000; Mudoi et al., 2013).

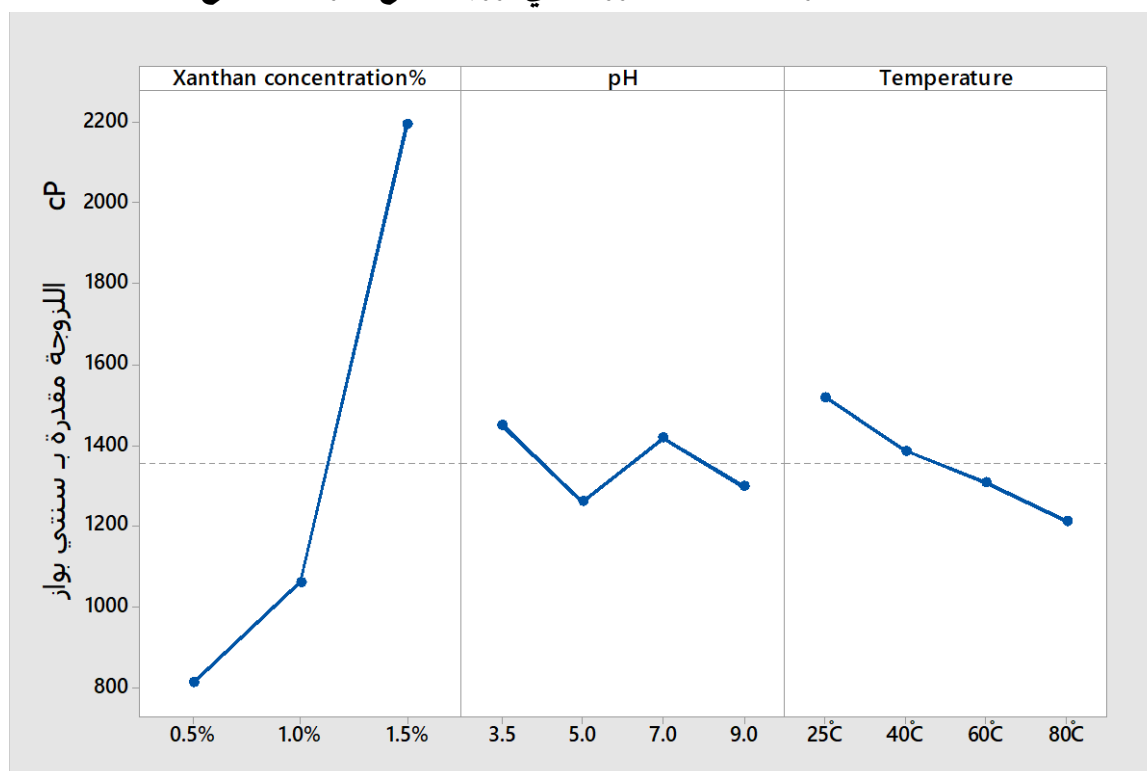
يظهر الشكل (23) المخطط البياني توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الخصائص الريولوجية لصمغ الكزانتان.



الشكل 23 توزع التباين للأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الخصائص الريولوجية لصمغ الكزانتان يظهر كل من الشكل (24) و(25) نتائج المقارنة بين سلوك لزوجة صمغ الكزانتان المنتج وسلوك لزوجة صمغ الكزانتان التجاري، والتي تؤكد على وجود توافق كبير من حيث أثر كل من درجة الحرارة وتركيز الصمغ المضاف بشكل معنوي ($P \leq 0.05$) في لزوجة نوعي الصمغ المدروسة، وعدم تأثر اللزوجة بدرجة pH محاليلهما (Gumus et al., 2010).



الشكل 24 تأثير المعاملات المدروسة في لزوجة صمغ الكزانثان المنتج



الشكل 25 تأثير المعاملات المدروسة في لزوجة صمغ الكزانثان التجاري

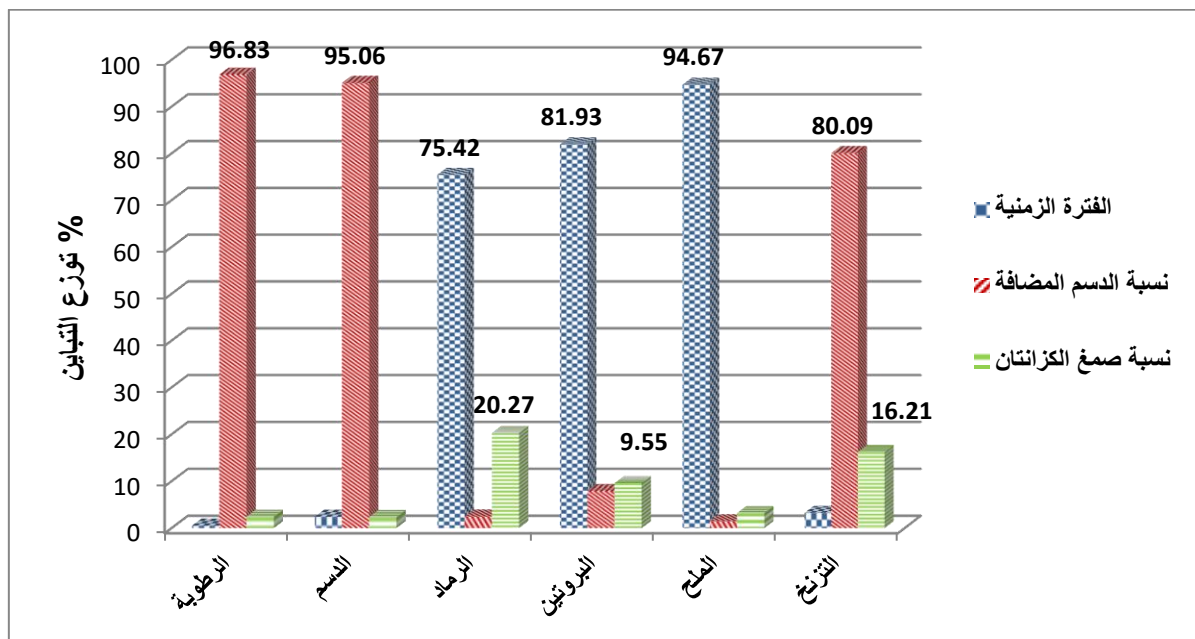
5.6. نتائج الاختبارات المطبقة على البرغر البقري:

5.6. The results of beef burger tests

5.6.1. نتائج الاختبارات الكيميائية:

5.6.1. Chemical analysis results:

يبين الشكل (26) المخطط البياني لنتائج اختبار توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة والمتضمنة تأثير كل من فترة الحفظ بالتجميد ونسبة صمغ الكزانتان المضافة ونسبة الدهن المستخدمة في خلطات البرغر البقري والموضحة في الجدول (14)، ودلت النتائج على وجود تفاوت في أثر كل من المتغيرات المدروسة في التركيب الكيميائي للبرغر البقري، إذ كان العامل الأساسي المسؤول عن التغيرات الحاصلة في كل من صفة الرطوبة والدهن والتزنخ في عينات البرغر هو نسبة الدهن المضافة، بتأثير بلغت نسبته ما بين (96.83 - 95.06 - 80.09)% على التوالي لكل من الصفات المذكورة أعلاه، ولدى الحديث عن بقية الاختبارات الكيميائية، فقد كان المؤثر الأكبر في التغيرات الحاصلة لمحتوى الخلطات من الرماد والبروتين والملح يعود إلى فترة الحفظ بالتجميد، إذ تراوحت نسب التباين لهذه الصفات ما بين (75.42، 81.93، 94.67)% على التوالي.

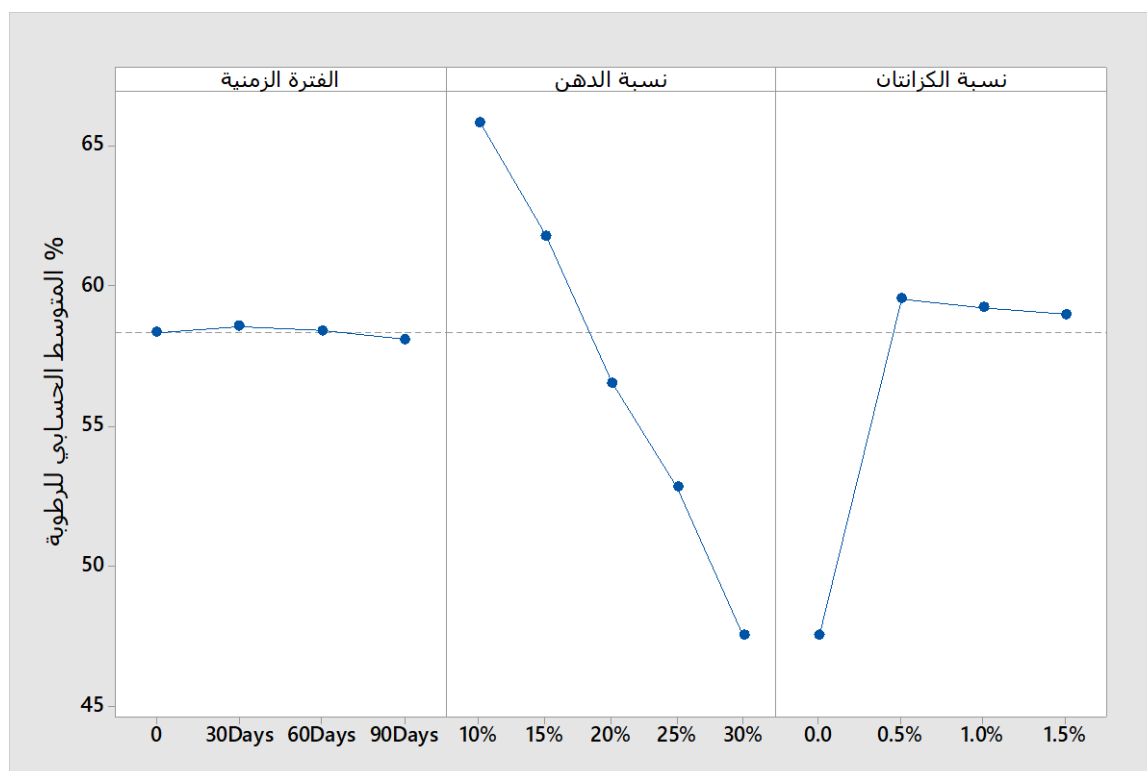


الشكل 26 نتائج اختبار توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة.

5.6.1.1. الرطوبة Moisture:

تراوحت قيم الرطوبة في عينات الشاهد للبرغر البقري ما بين (46.2)% و(48.65)%، وبين (51.57)% و(66.99)% في خلطات البرغر البقري (انظر الملحق (3) و(4))، ويتضح عبر المنحنى البياني (27) وجود أثر معنوي ($P \leq 0.05$) لعامل نسبة الدهن المضاف في المحتوى الرطوبي لعينات البرغر، إذ انخفض المحتوى الرطوبي لكل من عينات الشاهد وخلطات البرغر التي احتوت نسباً مرتفعة من الدهون (20، 25، 30)% مقارنة مع المحتوى الرطوبي لخلطات البرغر التي احتوت نسباً منخفضة من الدهون (10، 15)% ($P \leq 0.05$)، ويُفسر ذلك بأنه لدى إعداد وتحضير خلطات البرغر ذات النسب المنخفضة من الدهون، قد استعويض فيها عن الدهن بجزء من المستحلب الهلامي الذي تضمن كل من صمغ الكزانتان والماء، وتتناسب هذه النتائج مع ما توصلت إليه نتائج Rather وزملائه (2015) الذي عمل على استخدام صمغ الكزانتان كبديل جزئي للدهن في منتج تقليدي من كريات اللحم بنسبة دهن تصل إلى 20%، ولدى دراسة أثر فترة الحفظ بالتجميد في المحتوى الرطوبي لخلطات البرغر المحفوظة بالمقارنة مع مثيلاتها الطازجة، لم تظهر فروق معنوية ($P > 0.05$) في المحتوى الرطوبي، مما يدل على جودة عملية الحفظ بالتجميد كأفضل طريقة للحفظ، لحفاظها على المحتوى الرطوبي للمادة، وذلك في حال تم تغليف المادة بشكل جيد لحماية المنتج من تعرضه لظاهرة التجفاف (الحرق بالتجميد) التي تحصل خلال عملية الحفظ بالتجميد نتيجة تعرض السطح الخارجي للمادة المجمدة إلى الهواء خلال فترة الحفظ (Barbut, 2015) (العودة و أبو الخير، 2005)، وبالمقارنة مع ما تنصه المواصفة القياسية السورية للبرغر (م.ق.س. 2836، 2003) من الحدود المسموح بها للرطوبة ضمن المنتج والمحتوى الرطوبي لخلطات البرغر المدروسة، فقد لوحظ تجاوز المحتوى الرطوبي للخلطات ذوات الأرقام (7، 8، 9، 10، 11، 12) الحدود المسموح بها ضمن المواصفة والبالغة 60%، ويعود ذلك لإضافة نسبة من الماء ضمن المستحلب الهلامي لاستكمال نسبة 100% من الخلطة المشكلة من البرغر وذلك لدى خفض محتواها من الدهن (Rather et al., 2016)، ولدى التطرق في الحديث عن بيان أثر إضافة صمغ الكزانتان في المحتوى الرطوبي للبرغر البقري، تظهر فروقاً معنوية ($P \leq 0.05$) بين عينات الشاهد وخلطات البرغر البقري، إذ ساهمت إضافة صمغ الكزانتان إلى الخلطات في الحفاظ على محتواها من الرطوبة سواء للطازجة منها أو المحفوظة مقارنة مع الشاهد،

ويتفق ذلك مع قدرة صمغ الكزانثان في الاحتفاظ بالمحتوى المائي للمنتجات التي يتم إضافته إليها (Rather et al., 2016).

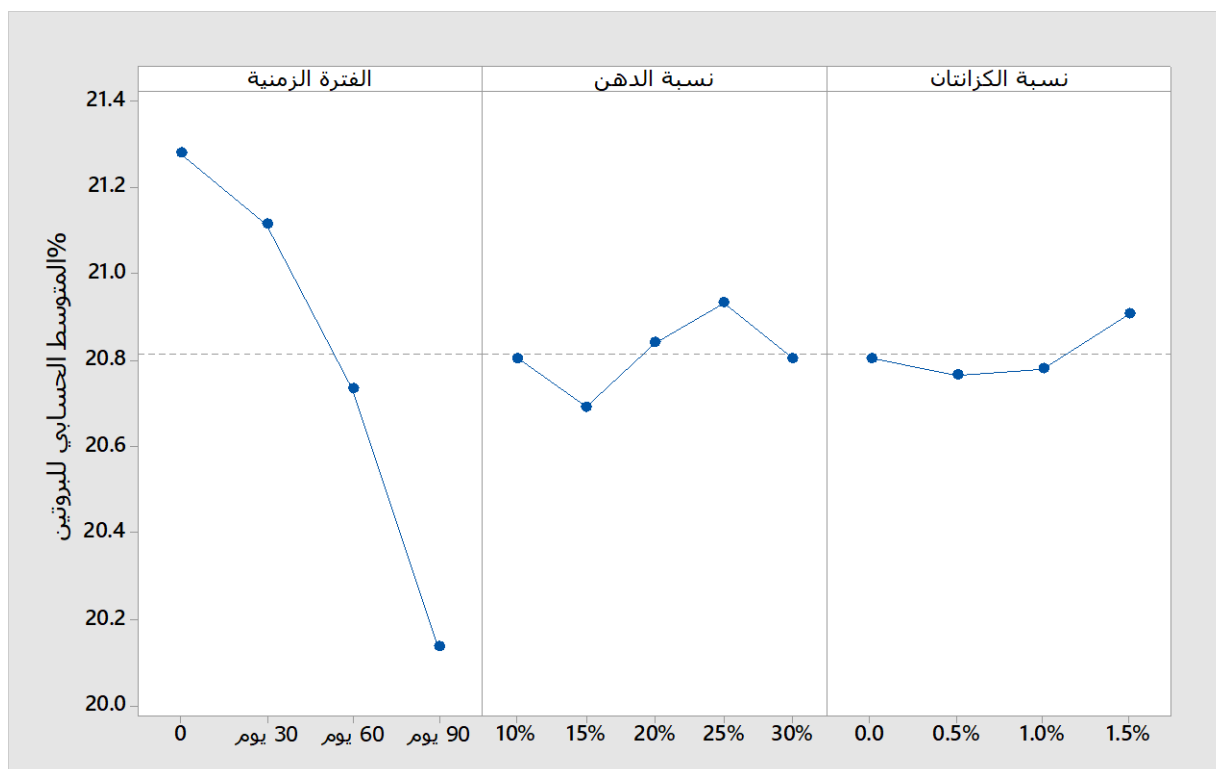


الشكل 27 تأثير المعاملات المدروسة في المحتوى الرطوبي لخلطات البرغر البقري.

5.6.1.2 البروتين Protein:

تراوحت قيم المحتوى البروتيني لكافة عينات البرغر البقري (الشاهد، الخلطات) ما بين (20%) و(21.52%) (انظر الملحق (3) و(4))، والسبب في تقارب النسب كونه تم تحضير كافة عينات البرغر من ذات قطع اللحم البقري، دون تأثير محتوى العينات من البروتين باختلاف نسب الدهون المضافة إليها (Rather et al., 2016)، حيث حافظ كل من عاملي الدسم وصمغ الكزانثان على محتوى خلطات البرغر من البروتين، من خلال مساهمة جزيئات الدهن في ربط جزيئات البروتين عبر تشكيل شبكة معها ضمن خليط المنتج تساعد في الاحتفاظ به، في حين عمل صمغ الكزانثان بوظيفة عنصر الربط ما بين جزيئات البروتين لدى الاستبدال الجزئي للدسم بالصمغ، مما حافظ على المحتوى البروتيني قدر الإمكان لمنتج البرغر، إلا أن عملية الحفظ بالتجميد قد أثرت معنوياً ($P \leq 0.05$) في المحتوى البروتيني لعينات البرغر البقري مقارنة مع مثيلاتها الطازجة، وبالأخص

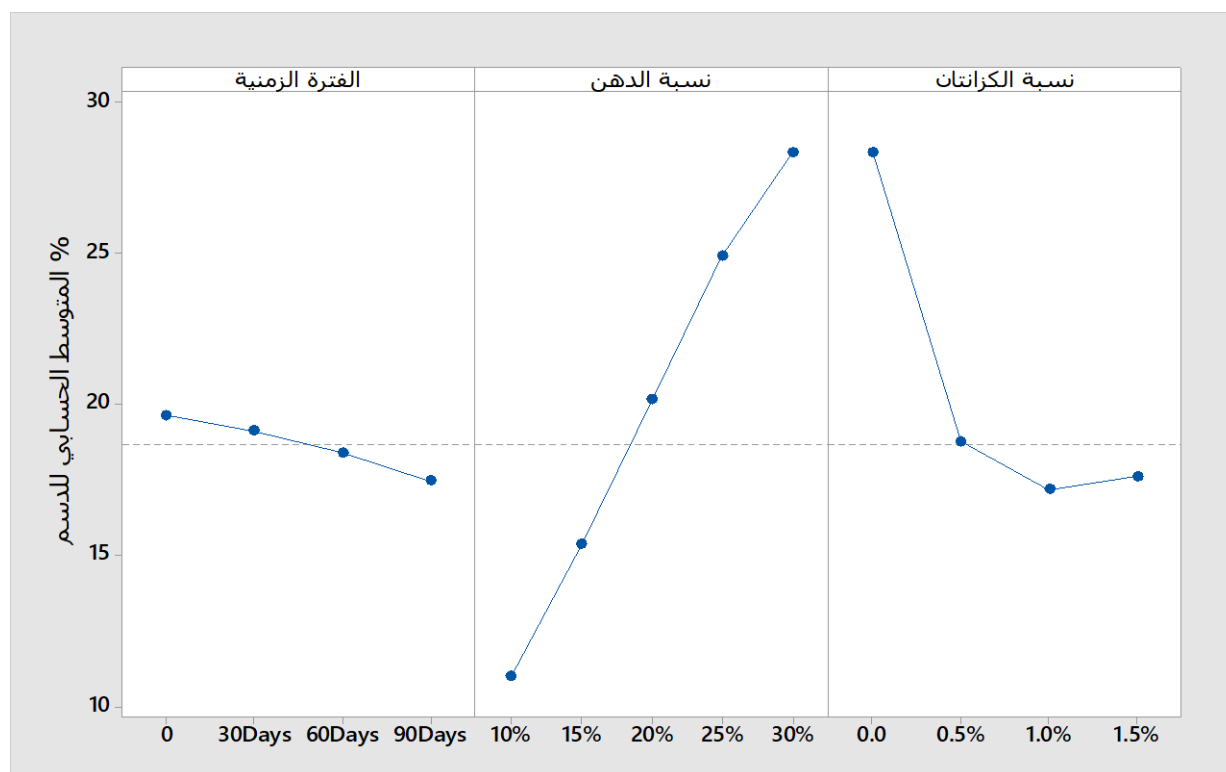
بعد مرور 90 يوماً من الحفظ بالتجميد، ويُفسر ذلك نتيجة حدوث فقد جزئي لمحتوى عينات البرغر من البروتينات لدى إجراء عملية إزالة لحالة التجميد (إذابة) للعينات خلال تقدير التركيب الكيميائي لها، ويعود ذلك لأثر البلورات الثلجية المتشكلة في الفراغات الخلوية ضمن النسيج العضلي للمنتج لدى حفظه بالتجميد، التي تمزق بدورها الجدر الخلوية لخلايا النسيج العضلي المحيط بها ضمن المنتج مما يساهم في نزوف محتوى الخلايا من المواد المغذية، ومنها البروتينات مع سائل اللحم (Sharaf et al., 2009) (العودة و أبو الخير، 2005)، حيث ارتفع معدل الفاقد البروتيني في عينات البرغر التي احتوت على صمغ الكزانتان بنسبة (0.5%) مقارنة مع عينات البرغر التي احتوت على صمغ الكزانتان بنسب أعلى (1، 1.5%)، وهذا يوضح دور صمغ الكزانتان كعامل ربط في الحفاظ على محتوى الغذائي للمنتجات المجمدة من التسرب لدى إجراء عملية الإذابة (Afshari et al., 2017)، ويُظهر الشكل (28) المنحنى البياني لتأثير كل المعاملات المدروسة على محتوى عينات البرغر البقري من البروتين.



الشكل 28 تأثير المعاملات المدروسة في محتوى البرغر البقري من البروتين.

5.6.1.3. الدسم Fat:

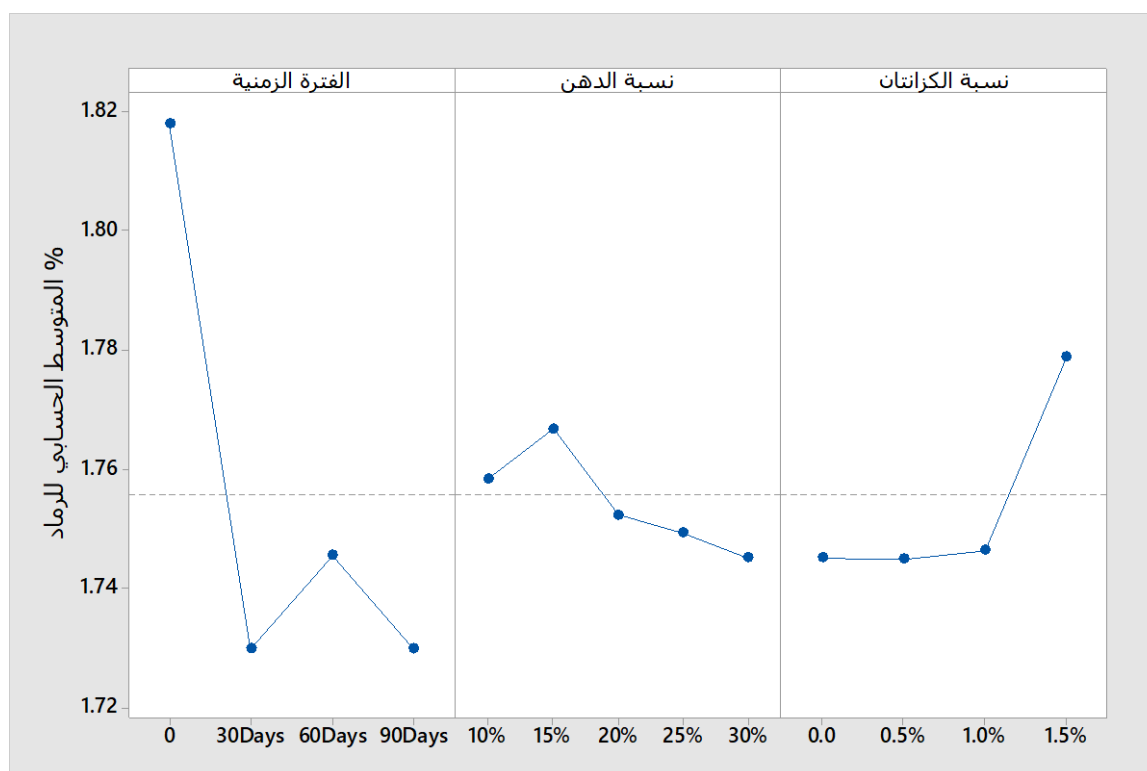
تراوحت قيم الدسم لعينات البرغر البقري ما بين (30%) و(10%)، وكان بديهيّاً تفوق محتوى عينة الشاهد من الدسم والبالغ (0%) مقارنة مع بقية عينات خلطات البرغر البقري، التي اختلفت في محتواها من الدسم معنوياً ($P \leq 0.05$)، نظراً لقيام هذه الدراسة على إجراء استبدال جزئي لمحتوى البرغر البقري من الدسم باستخدام صمغ الكزانتان كبديل عن الدسم بنسب مختلفة في سبيل إنتاج برغر منخفض السعرات الحرارية (Demirci et al., 2014)، مع الإشارة إلى نسب الدسم المستخدمة في خليط البرغر كانت متوافقة مع الفئات المصنفة ضمن المواصفة القياسية السورية للهمبرغر (م.ق.س. 2836، 2003)، ولوحظ وجود أثر معنوي لعملية الحفظ بالتجميد في محتوى عينات الشاهد من الدسم وانخفاضه بنسب بسيطة مقارنة مع عينات خلطات البرغر، ويعود ذلك إلى نشاط بعض الأنزيمات المحللة للدهون خلال فترة الحفظ بالتجميد، ويتوافق هذا مع نتائج دراسات كل من Ji- Han وزملائه (2019)، وAlonso وزملائه (2016)، ويُظهر الشكل (29) المنحنى البياني لتأثير كل المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الدسم.



الشكل 29 تأثير المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الدسم.

5.6.1.4. الرماد Ash:

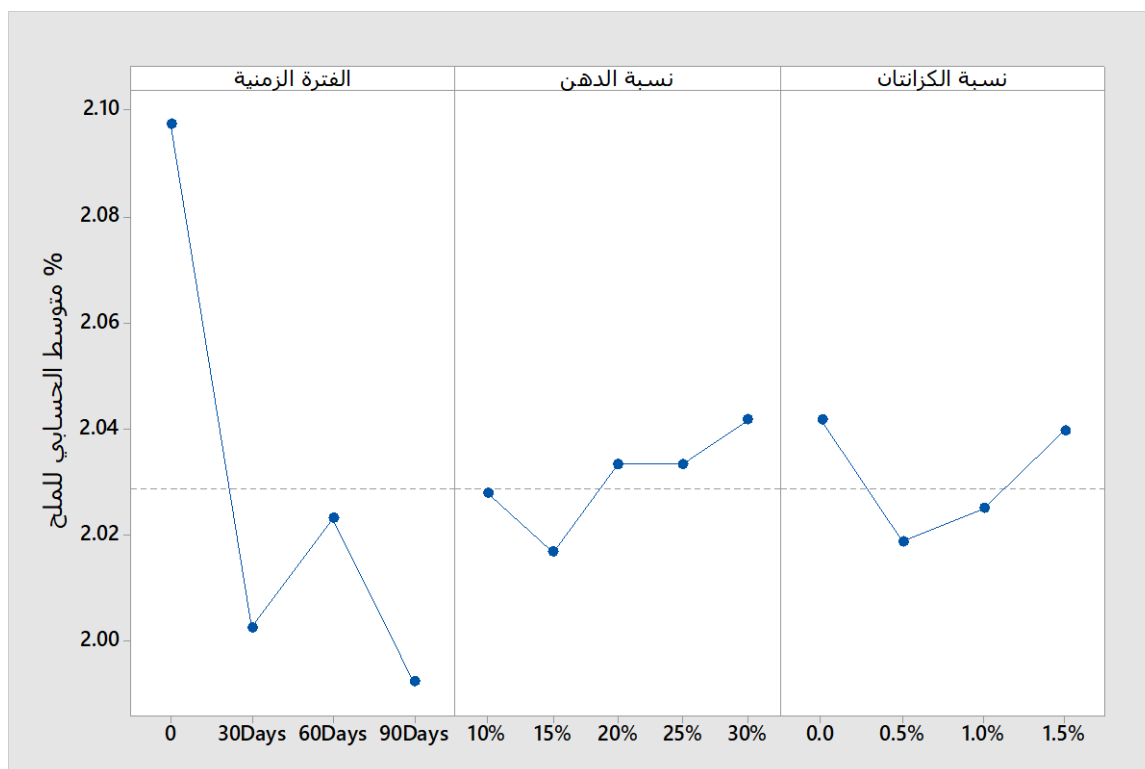
بلغت قيم رماد عينة الشاهد بين (1.69)% و (1.8)%، في حين تراوحت قيم الرماد لخلطات البرغر البقري بين (1.69)% و (1.85)% (انظر الملحق (3) و (4))، مع وجود فروق معنوية من حيث % الرماد ($P \leq 0.05$) لعينات خلطات البرغر البقري، والسبب في ذلك وبشكل أساسي لأثر عامل فترة الحفظ بالتجميد في محتوى العينات من الرماد حيث بلغ تأثيره حوالي 75.5%، إذ ساهمت إطالة فترة الحفظ لمدة 90 يوماً (3 أشهر) في زيادة الفاقد الغذائي لعينات البرغر البقري، ومنها الأملاح المعدنية التي تُمثل الرماد من خلال نزف سائل اللحم من منتج البرغر البقري لدى إزالة حالة التجميد عنه، والذي فسر كما ذُكر سابقاً بتشكيل البلورات الثلجية خلال عملية التجميد ضمن المسافات البينية للنسيج العضلي لمنتج البرغر، التي تعمل في إحداث ضرر على مستوى الجدر الخلوية للنسيج العضلي مما يُسهل من نزوح محتواه الغذائي للخارج لدى إزالة حالة التجميد عنه (Barbut, 2015) (Sharaf et al., 2009) (العودة و أبو الخير، 2005)، كما وُجدت فروق معنوية في نسب الرماد ما بين عينات خلطات البرغر البقري وذلك من حيث نسب صمغ الكزانتان المضافة لها، الذي لعب دورين هامين أولهما تتمثل في زيادة محتوى العينات من الرماد بنسب ضئيلة نظراً لمحتوى صمغ الكزانتان المرتفع بصورة طبيعية من الرماد الذي يبلغ ما يقارب 6.7% من تركيبه الكيميائي (Dessipri & Rao, 2016)، والدور الثاني الذي قام به صمغ الكزانتان هو الحفاظ على محتوى العينات من نزوح الرماد وخروجه مع سائل اللحم لدى إزالة حالة التجميد عن منتج البرغر، وتحديدًا مع زيادة نسبة صمغ الكزانتان المضافة (1.5)%، ويستنتج من ذلك إمكانية استخدام صمغ الكزانتان كعامل ربط ومثبت لمحتويات المنتجات التي يُضاف لها خصوصاً المجمدة منها (Rosalam & England, 2006)، ويُظهر الشكل (30) المنحنى البياني لتأثير كل المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الرماد.



الشكل 30 تأثير المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الرماد.

5.6.1.5. الملح Salt:

كانت العينات بأكملها متماثلة بصورة متقاربة في محتواها من الملح، كونه تمت إضافته ضمن خطة البهارات بنسب ثابتة لكافة الخلطات، ولوحظ وجود أثر سلبي للحفظ بالتجميد في محتوى العينات من الملح ($P < 0.05$)، قد بلغ تأثيره ما يقارب 95%، في حين ساهمت إضافة صمغ الكزانثان في الحفاظ على نسبة الملح المضافة دون تغيير يُذكر من خلال أدائه كعنصر رابط لمكونات المادة، وهذا موضح في الشكل (31) من خلال المنحنى البياني لتأثير العوامل المطبقة على العينات، مع العلم بأن إضافة الملح لمنتجات اللحوم تعمل على تعزيز الطعم اللحي umami لهذه المنتجات، إضافة إلى قيامه كعامل مساعد لاستخراج بروتينات اللحوم القابلة للذوبان التي تساهم في الحفاظ على المحتوى الرطوبي للمنتج، ويتوافق ذلك مع الدراسات المعدة من قبل كل من Barbut (2015) و Youssef و Barbut (2011).



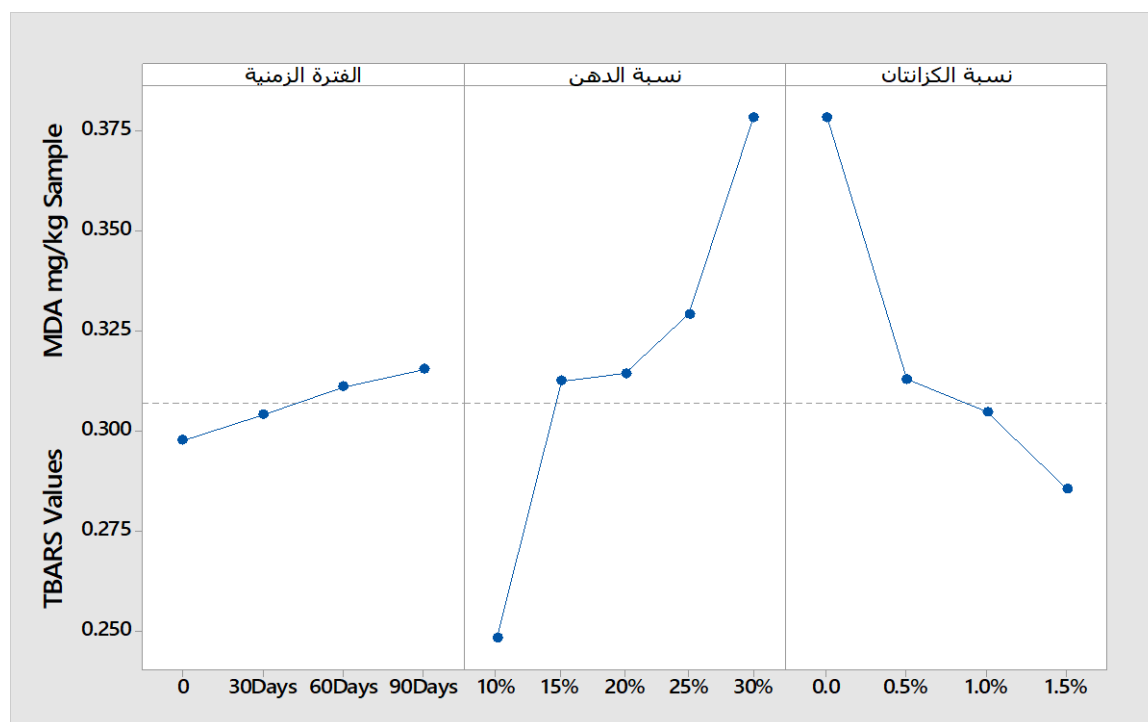
الشكل 31 تأثير المعاملات المدروسة في محتوى عينات البرغر البقري من الملح.

5.6.1.6. التزنخ التأكسدي (تأكسد الدهون):

5.6.1.6. Determination of Rancidity (Lipid Oxidation):

يُعبّر عن التزنخ أو تأكسد الدهون من خلال تقدير رقم TBARS وذلك بعدد ميلي غرامات من مركب MDA في كيلو غرام من المادة، وتبين وجود فروق معنوية ($P \leq 0.05$) بين قيم TBARS لمعظم عينات البرغر البقري، إذ ارتفعت قيم التزنخ في كل من عينات الشاهد والمعاملات ذوات الأرقام (1، 2، 3، 4، 5، 6) ذات المحتوى الدهني المرتفع، وبلغت قيمها ما بين (0.34) و (0.37) MDA ملغ/كغ عينة، في حين انخفضت قيم التزنخ إلى ما دون (0.29) MDA ملغ/كغ في المعاملات ذات المحتوى الدهني (انظر الملحق (3) و (4))، وعليه كان ارتفاع محتوى الخلطات من الدهن المؤثر الأول والأساسي في ظهور علائم تزنخ المحتوى الدهني في عينات البرغر، وبنسبة تأثير قد بلغت 80% ($P \leq 0.05$)، ويتوافق ذلك مع نتائج (Barbut, 2015) الذي أكد على أن تواجد الدهن بنسب كبيرة في أي منتج غذائي وعلى وجه الخصوص اللحوم، وتعرضها خلال عملية التحضير والتصنيع والحفظ إلى O_2 الجو المحيط، فإنه يسهم في تنشيط عملية تأكسد الدهون وظهور علائم التزنخ، وعلى الجانب المعاكس من ذلك، خفضت إضافة صمغ الكراتان إلى خلطات البرغر البقري ($P \leq$

0.05) من ارتفاع قيم TBARS، وبالأخص مع ارتفاع نسبة الكزانتان المضافة، ويُعَلَّل ذلك بقدرة صمغ الكزانتان في تثبيط تطور المركبات الثانوية (الجزور الحرة النشطة) الناتجة عن مراحل عملية التأكسد إلى مركبات أخرى تساهم في تأكسد الدهون، من خلال ارتباط ذرات الحديد وشوارده الموجودة في وسط التفاعل مع السلاسل الجانبية لبقايا حمض البيروفيك الموجودة ضمن التركيب الكيميائي لصمغ الكزانتان الذي أدى دور المركب المخليبي في الوسط، ويتوافق ذلك مع العديد من الدراسات والتقارير التي تثبت دور صمغ الكزانتان المثبط لعمليات تأكسد الدهون ومنها دراسة Khouryieh وزملائه (2015)، كما أن وجود صمغ الكزانتان ساهم في خفض الأثر السلبي لعملية الحفظ بالتجميد وخصوصاً لمدة ثلاثة أشهر وذلك في عينات خلطات البرغر مقارنة مع عينات الشاهد التي بلغ فيها قيمة TBARS بعد حفظها لمدة 90 يوماً إلى 0.4 MDA ملغ/كغ، إذ ساعدت الإطالة في فترة الحفظ بالتجميد في رفع قيم TBARS مقارنة مع الفترات الأولى من الحفظ بالتجميد، ويعود ذلك إلى نشاط الأنزيمات المحللة للدهون في المادة، إذ تعتمد عملية الحفظ بالتجميد على خفض سرعة نشاط العمليات التأكسدية دون إيقافها بشكل كلي (Khouryieh et al., 2015; Sharaf et al., 2009)، ويوضح الشكل (32) تأثير المعاملات المدروسة في قيم TBARS لعينات البرغر البقري.



الشكل 32 تأثير المعاملات المدروسة في قيم التزنخ التأكسدي للبرغر البقري مقدرة ك TBARS.

5.6.1.7. تقدير الملوثات المعدنية **Determination of heavy metals contaminants**:

أُجري الكشف عن الحدود القصوى للملوثات المعدنية في عينات البرغر البقري وذلك لعنصري الرصاص والزنك، ومقارنة مستويات هذين العنصرين مع الحدود المسموح فيها ضمن المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2836، 2003)، وتراوحت قيم عنصر الرصاص في عينات البرغر البقري ما بين (0.022) ملغ/كغ و(0.021) ملغ/كغ، وكانت هذه القيم أدنى من الحدود القصوى المسموح بها ضمن المواصفة القياسية السورية والبالغة (1) ملغ/كغ، كما تراوحت قيم عنصر الزنك ما بين (0.42) ملغ/كغ و(0.43) ملغ/كغ، وكانت أدنى من الحدود القصوى المسموح بها ضمن المواصفة القياسية السورية والبالغة (0.5) ملغ/كغ، ولوحظ تقارب قيم كل من عنصر الرصاص والزنك في كافة عينات البرغر البقري والمبينة ضمن الجدول (43)، كون المكونات الأساسية المستخدمة في تشكيل عينات البرغر كانت من مصدر واحد، ويعود سبب تواجد المعادن الثقيلة ولو بنسب ضئيلة في منتجات اللحوم إلى عدة عوامل منها الظروف البيئية ونوع المراعي التي تعيش فيها الحيوانات وآلية العمل ضمن خطوط الانتاج والتصنيع (Beneddouche et al., 2014).

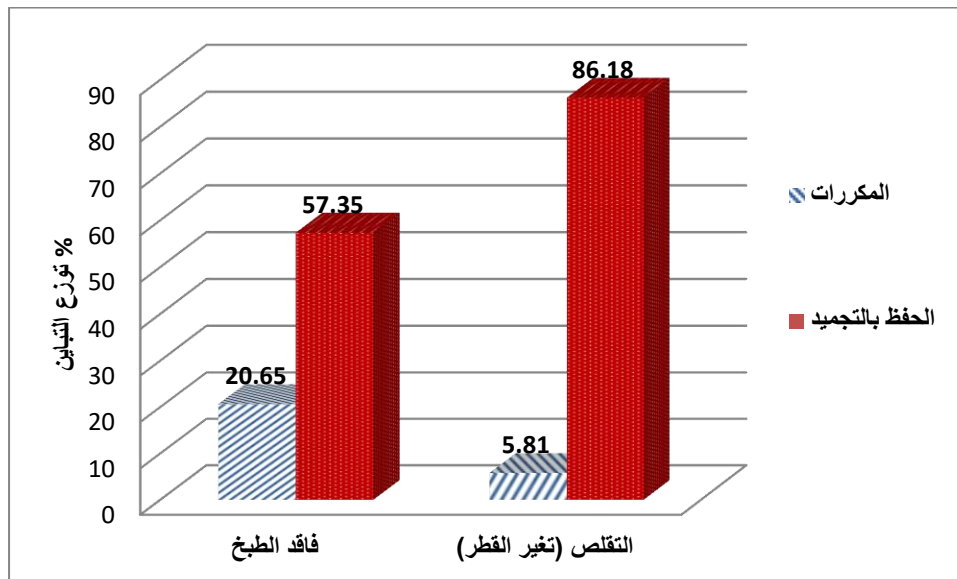
جدول 43 محتوى الرصاص والزنك (ملغ/كغ) في عينات البرغر البقري

المعاملة	الرصاص	الزنك	المعاملة	الرصاص	الزنك
الشاهد	0.0001 ± 0.0226	0.01279 ± 0.43	7	0.0001 ± 0.0221	0.005 ± 0.425
1	0.0001 ± 0.0225	0.01279 ± 0.43	8	0.0001 ± 0.0221	0.008 ± 0.427
2	0.0001 ± 0.0226	0.01279 ± 0.43	9	0.0001 ± 0.0222	0.008 ± 0.427
3	0.0001 ± 0.0226	0.00866 ± 0.427	10	0.0001 ± 0.0214	0.0135 ± 0.432
4	0.0001 ± 0.0219	0.00866 ± 0.432	11	0.0001 ± 0.0215	0.0127 ± 0.43
5	0.0001 ± 0.0222	0.01279 ± 0.43	12	0.0001 ± 0.0214	0.0127 ± 0.43
6	0.0001 ± 0.0220	0.01279 ± 0.43			

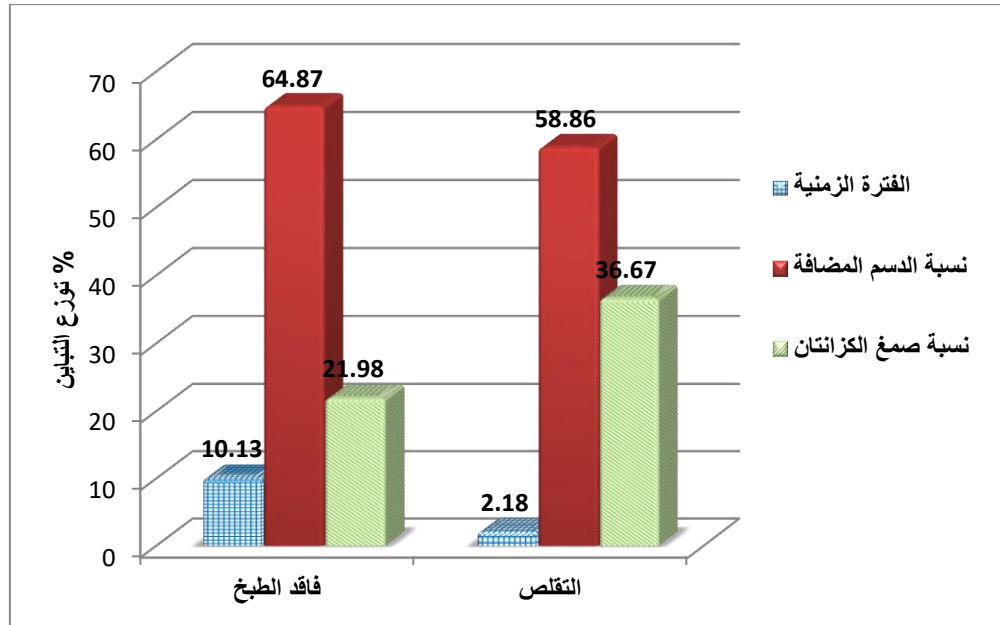
5.6.2. نتائج الاختبارات الفيزيائية:

5.6.2. Physical characteristics results:

يُوضح كل من الشكلين (33) و(34) المخطط البياني لنتائج اختبار توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة (تأثير فترة التخزين المجمد، ونسبة صمغ الكزانتان المضافة، ونسبة الدهن المستخدمة) في صفات عينات البرغر البقري (الشاهد، الخلطات) الفيزيائية، إذ أكدت النتائج بأن المسؤول الأول عن التغيرات الحاصلة لكل من اختباري فاقد الطبخ وتقلص أقرص البرغر البقري يعود إلى نسبة الدهن المستخدمة وتأثير تراوحت قيمه ما بين (64.87، 58.86)% للخلطات على التوالي، بينما يعود التأثير الأكبر في تغير الصفات الفيزيائية لعينات الشاهد إلى فترة الحفظ بالتجميد ونسب التباين كانت ما بين (57.35، 86.18)% لكل من الفاقد في الطبخ والتقلص على التوالي.



الشكل 33 نتائج اختبار توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في عينات الشاهد

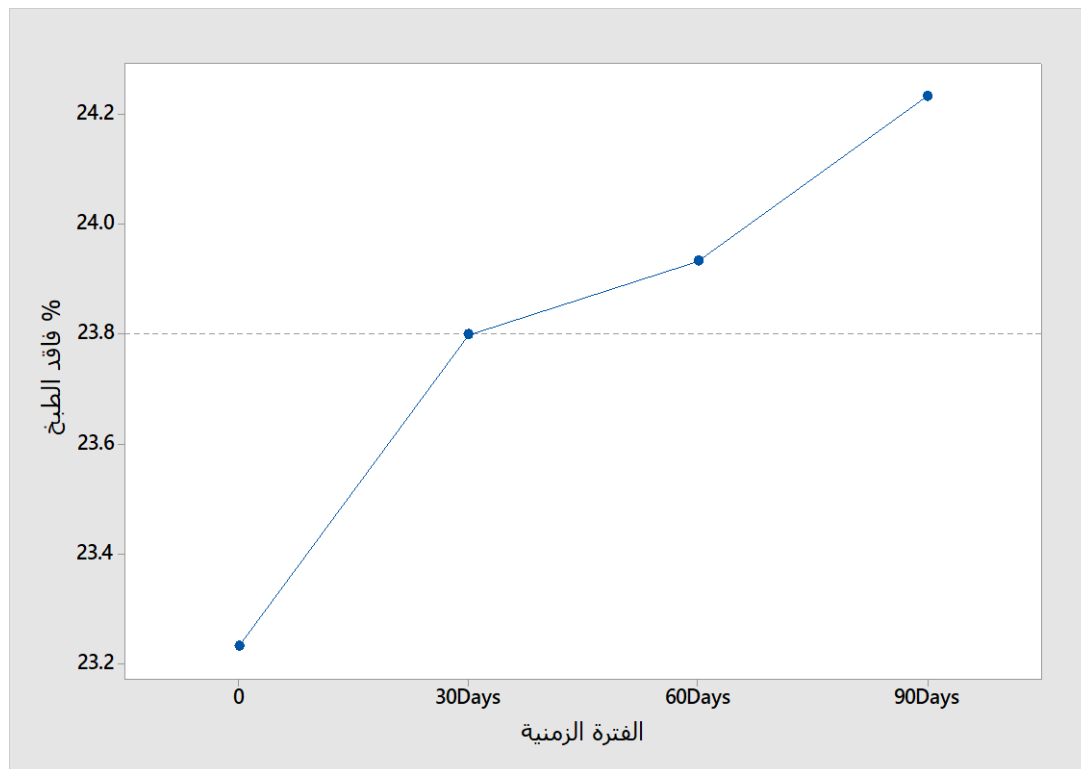


الشكل 34 نتائج اختبار توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في خلطات البرغر.

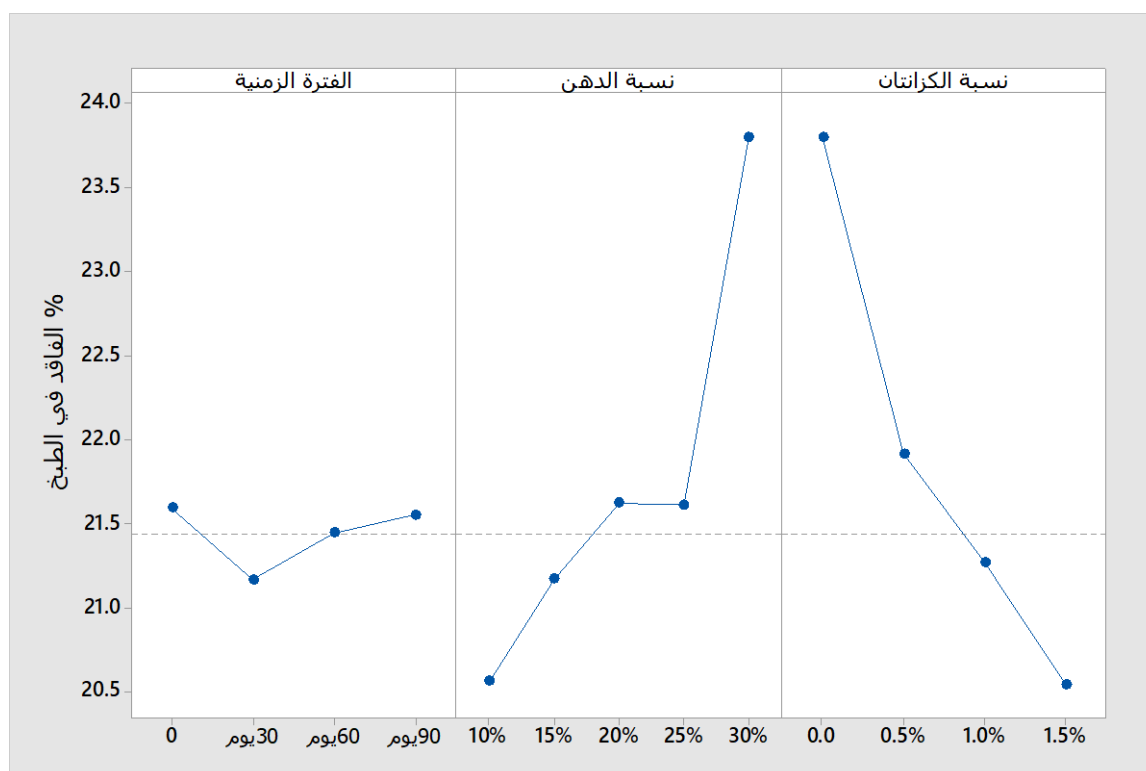
5.6.2.1. فاقد الطبخ (Cooking Loss):

تبين وجود فروق معنوية في نتائج تجارب قياس فاقد الطبخ لكل من عينات الشاهد وخطات البرغر البقري المختلفة بعد تعريضها لعملية الشوي (الطبخ)، وكان لعامل التخزين المجدد أثر في معدلات الفاقد بالطبخ لدى عينات الشاهد والذي بلغ تأثيره حوالي 56%، ويُفسر ذلك بالأثر السلبي الذي تسببه البلورات الثلجية المتشكلة ضمن النسيج العضلي للحم خلال عملية التجميد (Shanks *et al.*, 2002)، ويظهر من خلال الشكل (35) أثر عملية الحفظ بالتجميد في معدل فاقد الطبخ لعينات الشاهد من البرغر البقري، وقد وجد عند دراسة نتائج فاقد الطبخ لدى خلطات البرغر البقري الاثنتا عشر، فروق معنوية ($P \leq 0.05$) فيما بينها، ويعود ذلك لاختلاف نسب إضافة الدهن للخلطات، إذ أثر ارتفاع نسبة الدهن المضافة حوالي 65% في زيادة فاقد الطبخ لعينات البرغر البقري، ويُعزى ذلك إلى أن رفع كمية الدهن ضمن الخليط يدفع إلى زيادة اندماج الخلايا الدهنية ضمن المنتج وانحسار المسافة البينية ما بين الخلايا، مما يساعد في سهولة تسربها خارج المادة لدى تعرضها للحرارة خلال عملية الشوي نظراً لاتساع مساحة الخلايا الدهنية المعرضة للحرارة العالية مقارنة مع بقية مكونات المنتج (Hartmann *et al.*, 2020)، وبالمقابل انخفضت قيم الفاقد في الطبخ ضمن الخلطات ذات المحتوى الدهني الأقل لسببين هامين، أولهما تشكل شبكة تجمع ما بين جزيئات البروتين ومحتويات المنتج وبالأخص جزيئات

الدهن القليلة والتمسك بها، معيقاً بذلك عملية انسيال مكونات المادة لدى تعرضها لعملية الطبخ (Hartmann *et al.*, 2020)، والسبب الثاني الذي يعود له الأثر المعنوي في خفض فاقد الطبخ لعينات الخلطات ونسبة 22% هو إضافة صمغ الكزانتان، من خلال أدائه دور عامل الربط بين مكونات المادة والتقليل من انسيابها خارج المنتج سواء لدى عملية إزالة حالة التجميد عن المادة أو تعريضها لعملية الشواء (الطبخ) (Rather, *et al.*, 2016) و (Demirci *et al.*, 2014)، في حين لم يتجاوز أثر عامل فترة الحفظ بالتجميد في زيادة فاقد الطبخ لدى عينات الخلطات نسبة 10% ($P \leq 0.05$) مقارنة مع عينات الشاهد من البرغر البقري، ويتوافق ذلك مع نتائج بحث كل من Sharaf وزملائه (2009)، وShanks وزملائه (2002)، ويظهر الشكل (36) تأثير المعاملات المدروسة في معدل فاقد الطبخ لخلطات البرغر البقري، والذي تراوح ما بين 23.23% و24.23% للشاهد و20.5% و24% لخلطات البرغر.



الشكل 35 تأثير عملية الحفظ بالتجميد في معدل فاقد الطبخ في عينات الشاهد من البرغر البقري

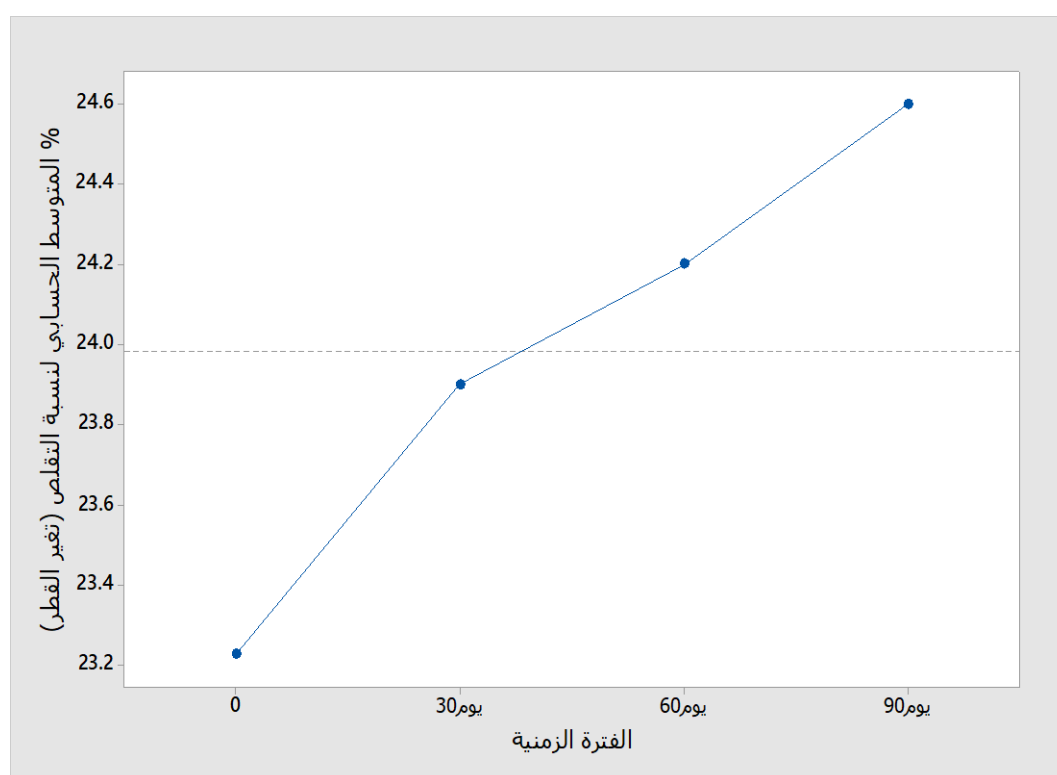


الشكل 36 تأثير المعاملات المدروسة في فاقد الطبخ للبرغر البقري.

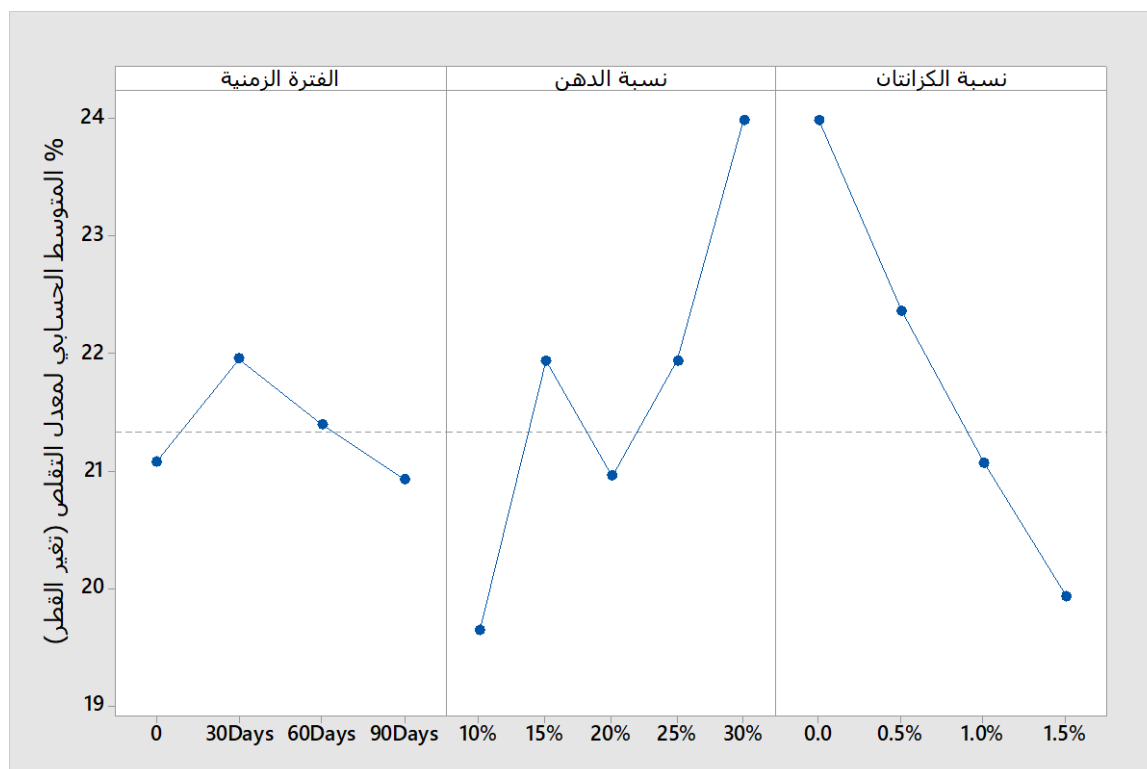
5.6.2.2. التقلص (تغير القطر) (Shrinkage):

تبيّن من خلال تجارب قياس نسب التقلص الحاصلة خلال عملية الطبخ (الشوي)، زيادة معدلات تقلص أقراص البرغر الشاهد وانكماشها وبدلالة إحصائية ($P \leq 0.05$) مع إطالة فترة الحفظ بالتجميد وبنسبة قد بلغت 86%، كما ساهم ارتفاع نسبة الدسم في عينات الشاهد في رفع معدلات التقلص، ويُفسر ذلك كما ذكر في الفقرة السابقة إلى زيادة اندماج الخلايا الدهنية ضمن المنتج وانحسار متوسط المسافة ما بين الخلايا مما يساعد في زيادة تسربها خارج المادة لدى تعرضها للحرارة خلال عملية الشوي، إضافة إلى ظاهرة تخرب البروتين وتشوّهه التي تساهم في انكماش المنتج أيضاً وهذا يتفق مع نتائج الدراسة المعدة من قبل كل من López وزملاؤه (2011)، و Oroszvari وزملاؤه (2005)، و Khalil (2000)، وعند القيام بتجارب قياس نسب التقلص لأقراص خلطات البرغر البقري خلال عملية طبخها، فقد لوحظ بأن مقدار التقلص والانكماش لقطر أقراص البرغر ازداد مع ازدياد نسب الدهون المضافة لهذه الخلطات وبصورة معنوية، إذ قدر التباين الحاصل في نتائج التقلص وانكماش أقراص خلطات البرغر بنسبة 59%، في حين عملت إضافة صمغ الكراتان دوراً معاكساً لأثر إضافة نسبة الدهون إلى

خلطات البرغر، إذ ساهم صمغ الكزانتان في خفض معدلات تقلص وانكماش قطر أقراص خلطات البرغر البقري ($P < 0.05$) خلال عملية طبخها، وحفاظه على الشكل العام لأقراص البرغر البقري، كما عمد إلى تقليل الأثر السلبي لعملية الحفظ بالتجميد في القوام العام لأقراص البرغر، وهذا يتفق مع نتائج دراسة كل من Ibrahim وزملائه (2011)، و Ulu (2006)، و Anderson و Berry (2001)، وقد تراوحت نسب التقلص (تغير القطر) لعينات البرغر البقري ما بين (24.60%) و (19.5%) ومن خلال الشكلين (37) و (38) يتوضح تأثير المعاملات المدروسة في نسب تقلص أقراص البرغر البقري لكل من الشاهد و خلطات البرغر المختلفة.



الشكل 37 تأثير فترة الحفظ بالتجميد في معدل التقلص (تغير القطر) لعينات الشاهد من البرغر البقري

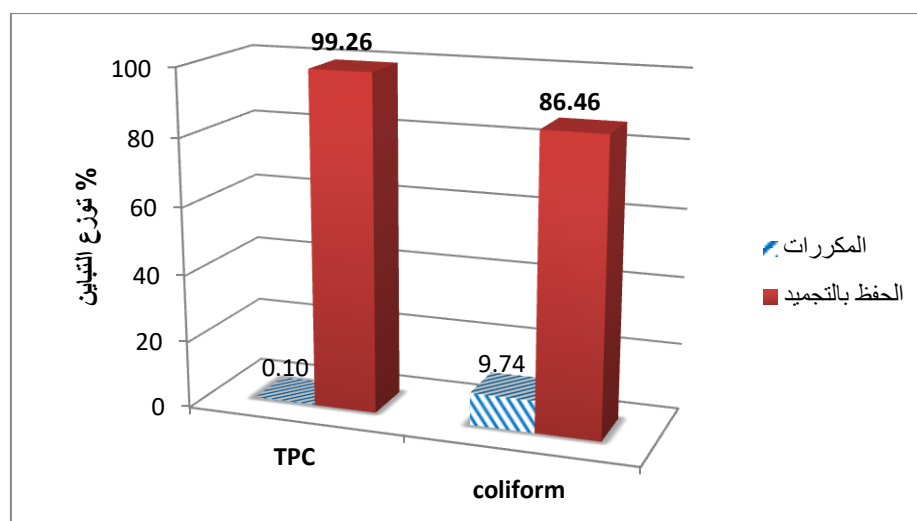


الشكل 38 تأثير المعاملات المدروسة في معدل التقلص (تغير القطر) لخلطات البرغر البقري

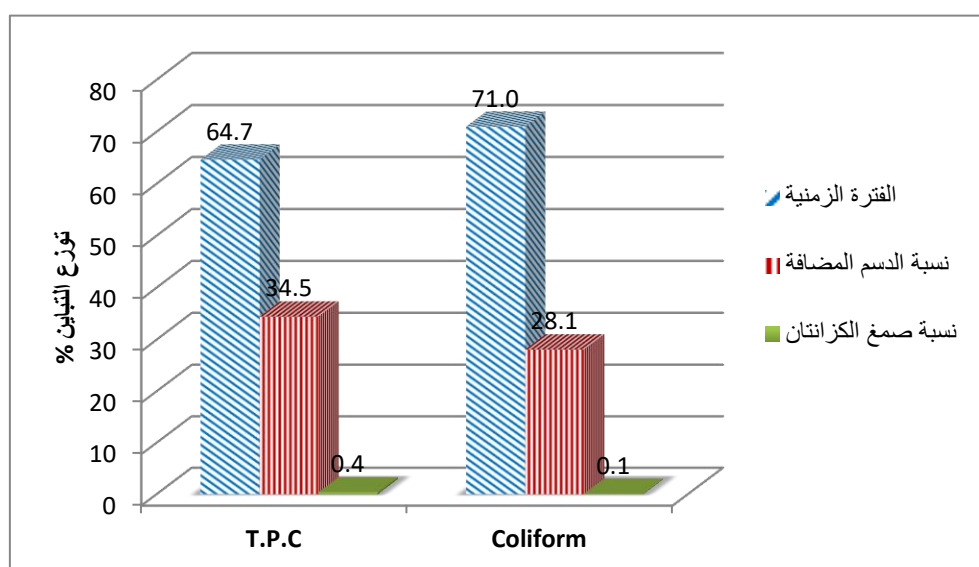
5.6.3. نتائج الاختبارات الجرثومية:

5.6.3. Microbiological evaluation results :

أظهرت كافة النتائج الأولية لتحليل عينات البرغر البقري الطازجة حمولة جرثومية واضحة وبصورة معنوية ($P \leq 0.05$)، مع اللحظ في عين الاعتبار بأن النتائج كانت ضمن الحدود المسموح بها في المواصفة القياسية السورية رقم 2179 للعام 2007 المتعلقة بالاشتراطات الخاصة بالأحياء الدقيقة الواجب تحققها في المنتجات الغذائية (الهمبرغر غير المطهي) (م.ق.س. 2179، 2007)، ويبين كل من الشكل (39) والشكل (40) المخطط البياني لنتائج توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة وتفاوت أثر كل منها في الحمولة الجرثومية لعينات البرغر البقري (الشاهد، الخلطات)، إضافة إلى ما سبق فقد أُجري تحليلاً أولياً لخليط التوابل والبهارات الذي أضيف إلى خلطة البرغر البقري والمبينة في الفقرات التالية، ويوضح الملحق (3) و(4) المحتوى الجرثومي لكل عينات البرغر البقري باختلاف معاملاتهما.



الشكل 39 نتائج اختبار توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الحمولة الجرثومية لعينات الشاهد

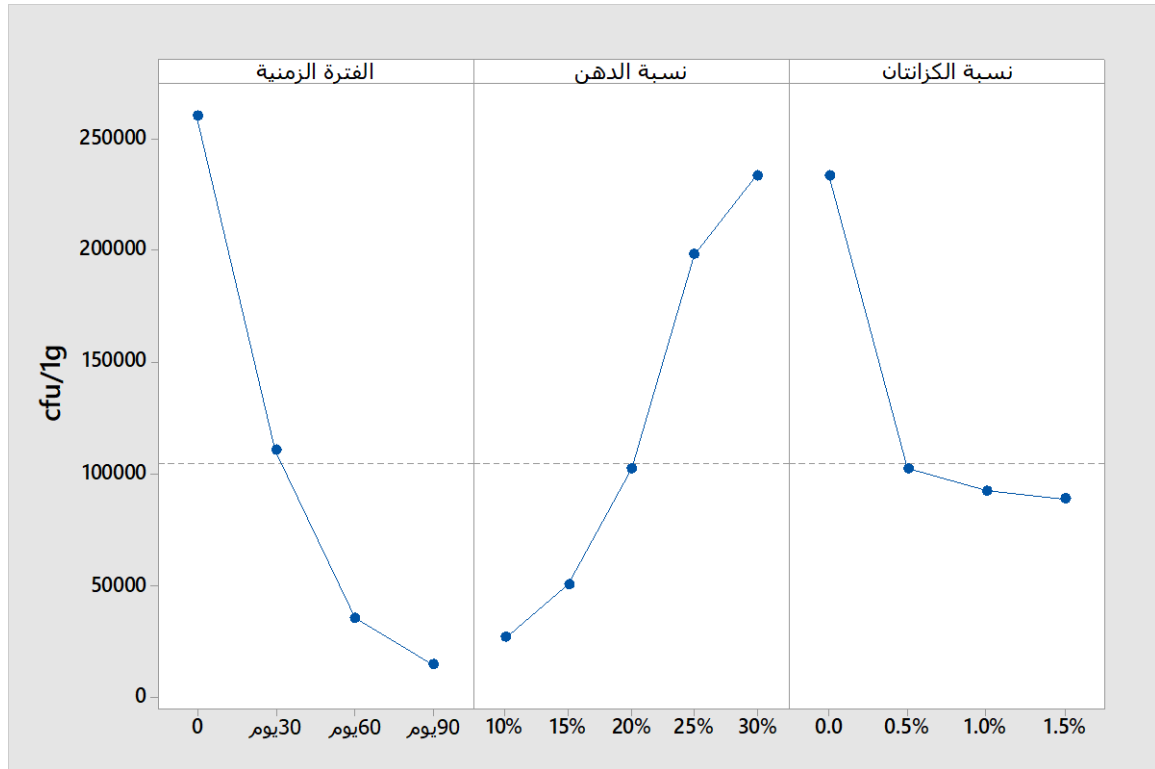


الشكل 40 نتائج اختبار توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الحمولة الجرثومية لخلطات البرغر البقري

5.6.3.1. التعداد العام للأحياء الدقيقة T.P.C:

تراوح التعداد العام للأحياء الدقيقة ما بين 10×5^5 خلية/1 غ لعينات الشاهد الطازجة و 103×4^4 خلية/1 غ لعينات الشاهد بعد الحفظ بالتجميد لمدة 90 يوماً، و 10×4.6^5 خلية/1 غ لخلطات البرغر البقري الطازجة و 10×2.8^3 خلية/1 غ لخلطات البرغر البقري بعد الحفظ بالتجميد لمدة 90 يوماً (انظر الملحق (3) و(4))، ويعود سبب التلوث للعديد من العوامل التي يتعرض لها المنتج خلال مراحل تحضيره والتي تندرج تحت بند الممارسات

التصنيعية والتي تبدأ من عملية ذبح وتقطيع الذبيحة، مروراً بعملية فرم اللحم بجهاز الفرغ التي تعتبر مصدراً من مصادر التلوث الميكروبي للحم، كما أن إضافة خليط البهارات والتوابل تساهم في زيادة الحمولة الميكروبية لأي منتج تُضاف إليه، وهذا ما يُفسره كل من Singh و Cross (2020)، و Pal وزملائه (2018)، ولدى دراسة أثر الحفظ بالتجميد على عينات البرغر البقري فقد أظهرت نتائج التحاليل الجرثومية ضمنها الشاهد انخفاضاً واضحاً في التلوث الميكروبي ($P \leq 0.05$) فيها بمقدار تراوح ما بين 99 إلى 65% بالنسبة للتعداد العام للأحياء الدقيقة في كل من عينات الشاهد وخططات البرغر البقري (بالتتالي)، وذلك يتفق مع قدرة عملية التجميد وفعاليتها في خفض النشاط الميكروبي للأحياء الدقيقة لحدوده الدنيا أو إيقافه نتيجة تشكيل صدمة حرارية لهذه الأحياء الدقيقة بفعل خفض درجة الحرارة بشكل مفاجئ إلى ما دون (-18) م (Shaltout et al., 2017; Barbut, 2015)، ومن خلال قراءة نتائج التعداد العام للأحياء الدقيقة لخططات البرغر البقري فقد لوحظ انخفاض الحمولة الجرثومية بنسبة 34.5% مع انخفاض نسب الدهن المضافة إلى الخلطات، وتحديدًا لكل من المعاملات ذوات الأرقام (7، 8، 9، 10، 11، 12)، إذ اعتبر في هذه الحالة الدهن كمصدر من مصادر التلوث الخارجية التي تزيد من الحمولة الجرثومية لمنتج البرغر البقري (Barbut, 2015)، ولم يكن هنالك فروق معنوية لدى دراسة أثر إضافة صمغ الكزانتان في الحمولة الجرثومية للبرغر البقري ($P > 0.05$)، مع العلم بأن إضافة صمغ الكزانتان قد تعمل على خفض النشاط المائي a_w للوسط الذي تواجد فيه صمغ الكزانتان مما يساهم في خفض الماء المتاح للأحياء الدقيقة في حال تواجده ضمن المنتج (García-Ochoa et al., 2000)، ويبين الشكل (41) تأثير المعاملات المدروسة في التعداد العام للأحياء الدقيقة في البرغر البقري.



الشكل 41 تأثير المعاملات المدروسة في التعداد العام للأحياء الدقيقة في البرغر البقري

5.6.3.2. بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية موجب التخثر *Staphylococcus aureus*:

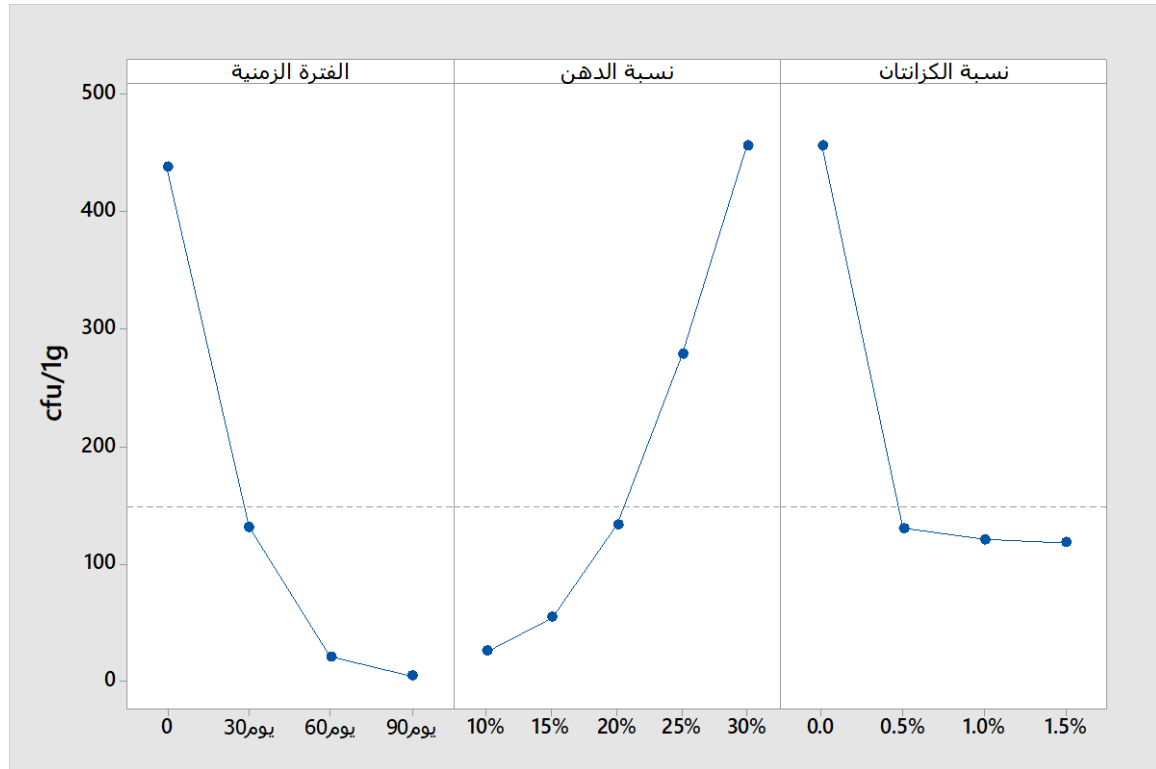
كان تعداد المكورات العنقودية الذهبية موجبة التخثر في كافة عينات البرغر البقري (الشاهد، الخطات) أدنى من 10×10^2 خلية/غ، وهذا يتوافق مع ما تنص عليه المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2179، 2007)، إذ اعتبرت النتائج ضمن الحدود المسموحة، كما أظهرت نتائج تحليل خلطة التوابل والبهارات التي أُضيفت إلى خلطة البرغر من حيث تعداد المكورات العنقودية الذهبية بأنها أقل من 10×10^2 خلية/غ، وهذا يتوافق مع ما تنص عليه المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2179، 2007) وذلك ضمن بند (7- التوابل والبهارات).

5.6.3.3. بكتيريا السالمونيلا *Salmonella*:

خلت كافة عينات البرغر البقري إضافة إلى خليط التوابل والبهارات المستخدم في خليط البرغر البقري من وجود بكتيريا السالمونيلا، حيث كانت نتائج التحليل والكشف سلبية، وهذا يتوافق مع ما تنص عليه المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2179، 2007).

5.6.3.4. بكتيريا الكوليفورم *Coliform*:

تراوح تعداد بكتيريا الكوليفورم ما بين $10^2 \times 6.5$ خلية/ 1 غ لعينات الشاهد الطازجة و 10×4.5 خلية/ 1 غ لعينات الشاهد المجمدة والمحفوظة لمدة 90 يوماً، و $10^2 \times 8.3$ خلية/ 1 غ لخلطات البرغر الطازجة (انظر الملحق (3) و(4))، إضافة إلى أن تعداد بكتيريا الكوليفورم ضمن خلطة التوابل والبهارات المستخدمة في خليط البرغر البقري قد وصل إلى $10^2 \times 8.8$ خلية/ 1 غ، وهذا يُفسر سبب تواجد بكتيريا الكوليفورم ضمن عينات البرغر البقري، إضافة إلى بعض الممارسات التصنيعية التي تعرض إليها منتج البرغر البقري خلال عملية إعداده (Barbut, 2015) (العودة و أبو الخير، 2005)، ولوحظ وجود تأثير معنوي لعملية الحفظ بالتجميد ($P \leq 0.05$) من خلال خفض تعداد بكتيريا الكوليفورم بنسبة تراوحت ما بين (86)% لعينات الشاهد و(71)% لخلطات البرغر، مما يدل على فعالية عملية الحفظ بالتجميد في خفض النشاط الحيوي للأحياء الدقيقة (Shaltout et al., 2017)، مع الإشارة إلى أن تعداد بكتيريا الكوليفورم كانت ضمن الحدود المسموح بها في المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2179، 2007)، إلى جانب الأثر الإيجابي لعملية الحفظ بالتجميد على خفض تعداد بكتيريا الكوليفورم، فقد أدى خفض نسبة الدهن المضافة إلى خلطات البرغر البقري إلى خفض الحمولة الميكروبية من بكتيريا الكوليفورم وذلك بنسبة 28%، كونه تم اعتبار الدهن كمصدر من مصادر التلوث الأولي لدى إعداد خلطات البرغر البقري إلى جانب خليط التوابل والبهارات (Shaltout et al., 2017)، (حمزة وزملاؤه، 2014)، ويبين الشكل (42) تأثير المعاملات المدروسة في تعداد بكتيريا الكوليفورم لعينات البرغر البقري.



الشكل 42 تأثير المعاملات المدروسة في تعداد بكتيريا الكوليفورم للبرغر البقري.

5.6.3.5. بكتيريا الإشريكية القولونية الممرضة *E.coli* O157:7H:

كانت كافة نتائج الكشف والتحري عن وجود بكتيريا الإشريكية القولونية الممرضة O157:7H في كل من عينات البرغر البقري (الشاهد، الخلطات) وخليط التوابل والبهارات سلبية ($P \leq 0.05$) وخالية من وجودها، وهذا يتوافق مع المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2179، 2007).

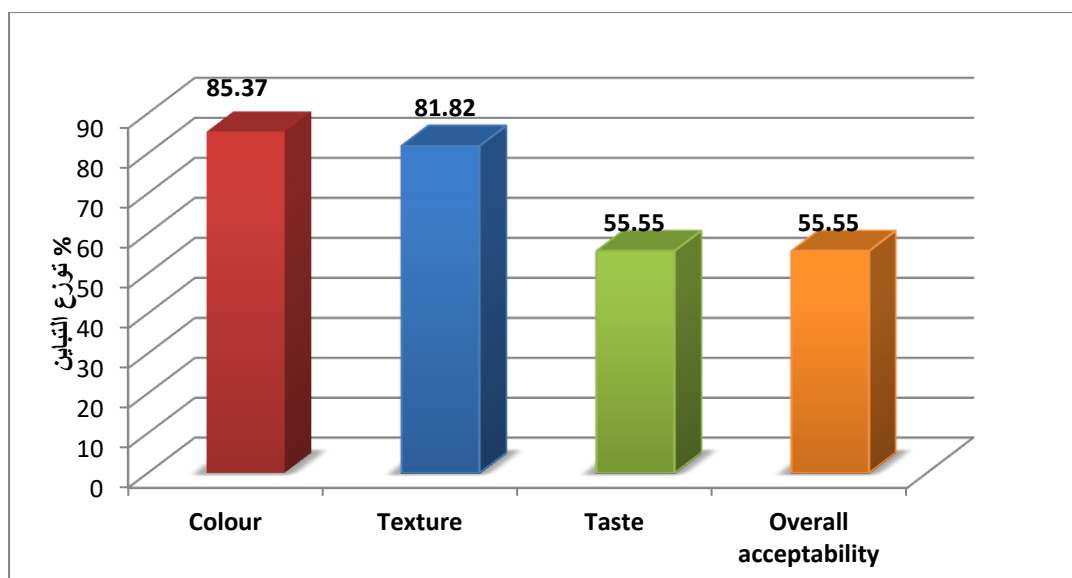
5.6.3.6. التعداد العام للخمائر والفطور **Total yeast and molds count**:

بلغ التعداد العام للخمائر والفطور في نتائج تحليل خليط التوابل والبهارات 10×7.7 خلية/1 غ، إلا أن هذا التعداد كان ضمن الحدود المسموح بها ضمن المواصفة القياسية السورية (م.ق.س. 2179، 2007) وتعتبر الخمائر والفطور وأبواغ البكتيريا المحبة للحرارة من أكثر الأحياء الدقيقة تواجداً ضمن البهارات والتوابل وبالأخص أن البهارات والتوابل تعتبر من الأطعمة المنخفضة النشاط المائي a_w (أقل من 0.95) التي من الممكن أن تتواجد فيها الخمائر والفطور مقارنة مع بقية الأحياء الدقيقة التي تتطلب نشاط مائي أعلى من 0.95 (González et al., 2017).

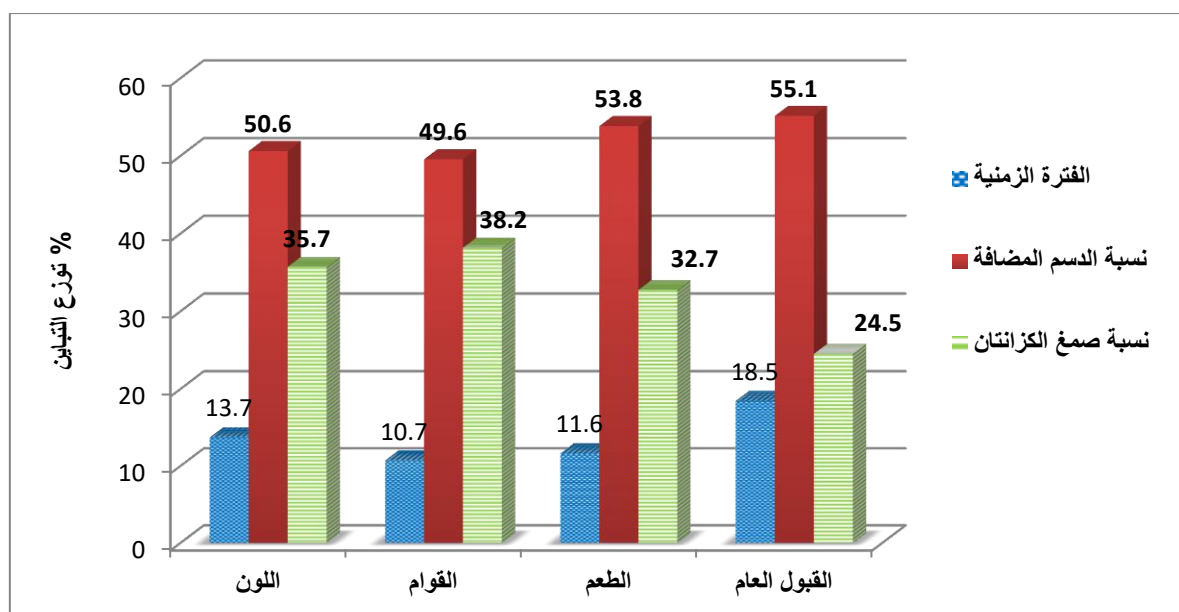
5.6.4. نتائج الاختبارات الحسية:

5.6.4. Sensory evaluation results :

تعتبر الاختبارات الحسية من أهم الاختبارات التي تساعد في معرفة مدى تأثير المعاملات المطبقة على أي منتج في رأي مستهلكها، وخصوصاً منتجات اللحوم التي تعتمد في جذب المستهلك وإقباله على شرائها من خلال شكلها الخارجي (Ibrahim *et al.*, 2011)، ويوضح كل من الشكل (43) و(44) المخطط البياني لنتائج توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة وتفاوت تأثير كل منها في الصفات الحسية لعينات البرغر البقري (الشاهد، الخلطات).



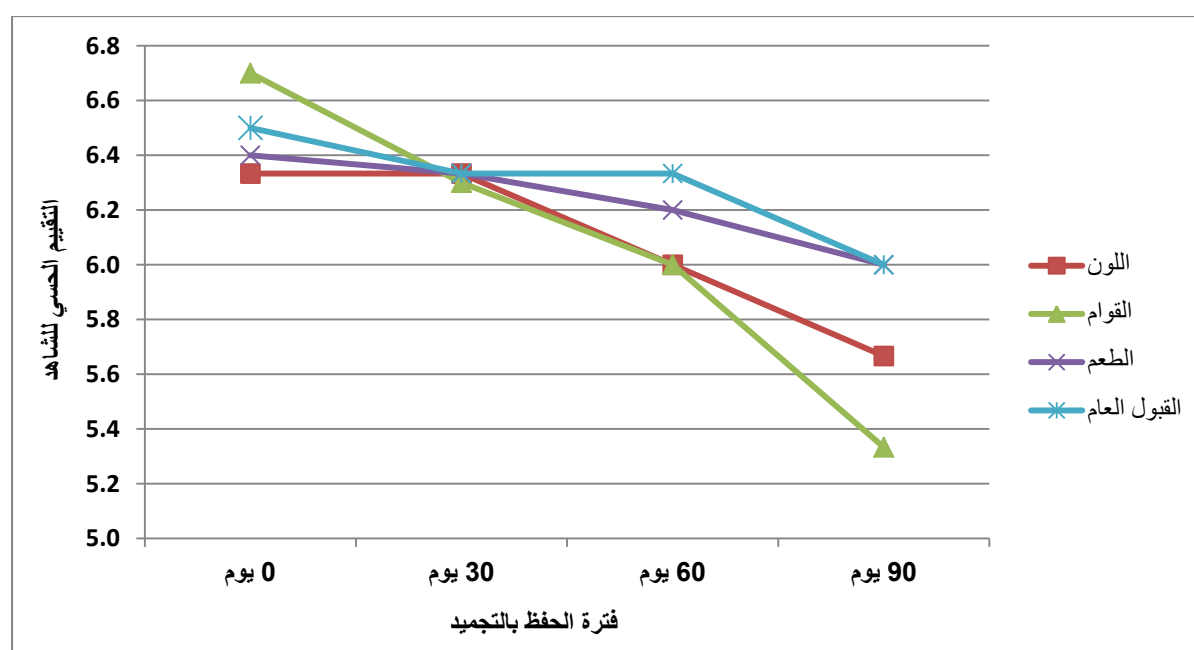
الشكل 43 نتائج توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الشاهد.



الشكل 44 نتائج توزيع التباين لتحديد الأهمية النسبية للمتغيرات المدروسة في الصفات الحسية لخلطات البرغر البقري

دُرست الصفات الحسية لعينات الشاهد من البرغر البقري، حيث وجدت فروق معنوية في نتائج التقييم الحسي لكل من صفتي اللون والقوام ($P \leq 0.05$) لعينات الشاهد المحفوظة مجمدة لمدة 90 يوماً مقارنة مع العينات الطازجة، ويُعزى ذلك إلى أثر عملية الحفظ بالتجميد في لون منتجات اللحوم، الذي يحصل بشكل كبير في حال لم تُتخذ الإجراءات اللازمة خلال عملية التجميد للمنتج ومنها إحكام عملية التغليف بالشكل الصحيح للمنتج قبل تعريضه لعملية التجميد، إذ يساهم فشل عملية التغليف في تعرض المنتج لحروق التجميد (freeze burn)، التي تتسبب بمظهر جاف للمنتج، ومنحه اللون الداكن أيضاً نتيجة لأكسدة الأصبغة المسؤولة عن اللون الوردي للحوم المعروفة بـ المايوغلوبين (Mb (Myoglobin) وتحولها إلى جزئ ميتومايوغلوبين (Met- (Met-Myoglobin) Mb المسؤول عن اللون الداكن في عينات الشاهد المجمدة وهذا يتفق مع نتائج كل من دراسات Yu وزملائه (2017)، وGahruie وزملائه (2017)، وZhang وزملائه (2016)، إضافة إلى ما سبق تلعب سرعة عملية خفض الحرارة خلال عملية التجميد وإطالة فترة الحفظ بالتجميد دوراً مؤثراً في قوام المنتج المجمد، عبر حجم البلورات الثلجية المتشكلة ضمن الفراغات البينية للنسيج الخلوي للمنتج، التي يظهر أعقابها في الطعم الرملي للمنتج، وتهتك قوام المنتج وازدياد طراوته خلال عملية إزالة حالة التجميد وطبخه، وفقدانه لمحتواه من الماء

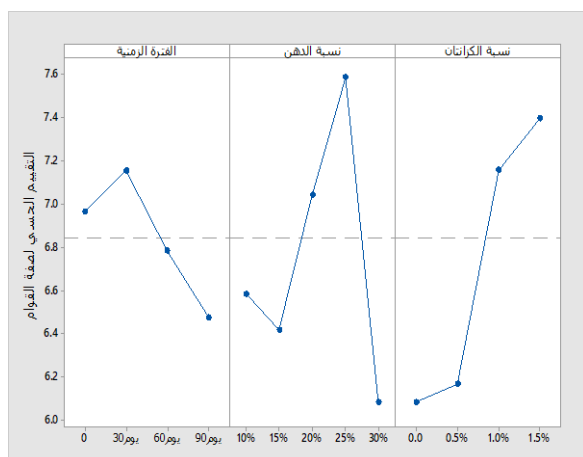
والدهن بشكل أسرع وأكبر، وهذا ما تمت ملاحظته لدى دراسة صفة القوام لعينات الشاهد من البرغر، وبشكل واضح في العينات المجمدة والمحفظة لمدة 90 يوماً ($P \leq 0.05$) مقارنة مع فترات الحفظ لمدة (30، 60) يوماً والعينات الطازجة (AL-Mrazeeq *et al.*, 2010)، ويظهر الشكل (45) المنحنى البياني تأثير عملية الحفظ بالتجميد في الصفات الحسية لعينات الشاهد من البرغر البقري، ولدى دراسة أثر الحفظ بالتجميد في بقية الصفات الحسية من الطعم والقبول العام لعينات الشاهد، لم تظهر أي فروق معنوية تذكر تعبر عن تأثيرهما بعملية الحفظ بالتجميد (Gahruie *et al.*, 2017).



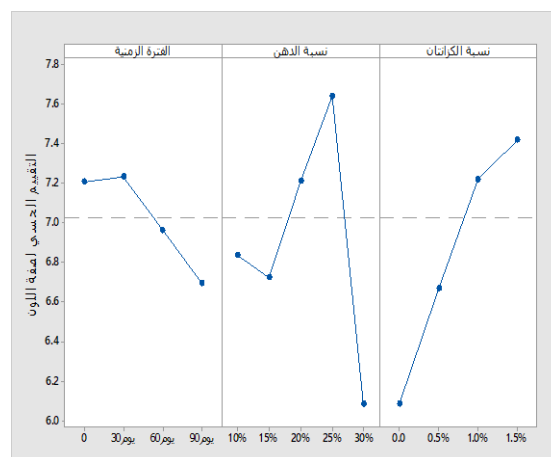
الشكل 45 تأثير فترة الحفظ بالتجميد في الصفات الحسية لعينات الشاهد

وجدت فروقاً معنوية ($P \leq 0.05$) لدى مقارنة الصفات الحسية لخطاطات البرغر البقري مع عينات الشاهد، حيث تبين بأن عامل إضافة الدهن هو المؤثر الأول في تقييم الصفات الحسية، إذ ترافقت زيادة نسبة الدسم مع زيادة قبول المنتج من حيث الطعم واللون وذلك ضمن الزيادة المقبولة للدسم (15، 20)% وهذا يتفق مع نتائج دراسة Sanchez-Zapata وزملاؤه (2010) و Rather وزملاؤه (2016)، وقد بلغت نسبة تأثير زيادة الدهن ما يقارب 56% لصفة اللون و 37% لصفة الطعم، حيث ساهمت إضافة الدهن في منح منتج البرغر اللون الوردي المرغوب لكل من المعاملات ذوات الأرقام (4، 5، 6، 7، 8، 9)، إضافة إلى إضفاء النكهة الدسمة المحببة

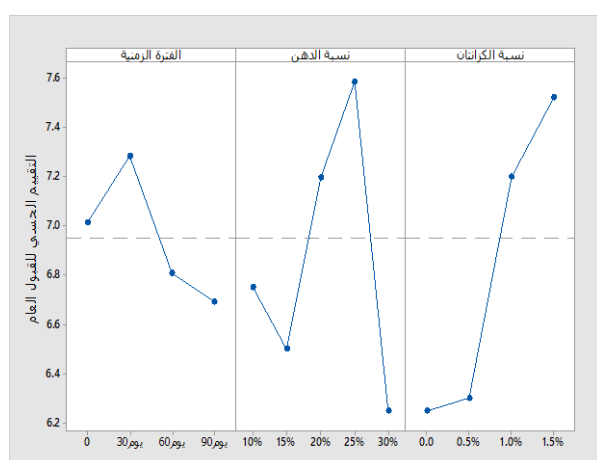
لدى شريحة واسعة من المستهلكين لمنتج البرغر البقري (Sharaf *et al.*, 2009)، مع العلم بأن ارتفاع نسبة الدهن عن (25)% أثر سلباً في صفة اللون، من خلال زيادة بهتان لون المنتج (اللون الأبيض للدهن)، والذي دفع بالمستهلكين بالنفور منها مقارنة مع المعاملات التي تضمنت نسباً أقل من الدهن (AL-Mrazeeq *et al.*, 2010)، ولوحظ لدى التقييم الحسي لصفة القوام بأن إضافة صمغ الكزانتان حسنت بشكل معنوي من قوام المعاملات ذات المحتوى الأقل من الدهن (10، 15) %، والحفاظ على قوامها المتماسك خلال مرحلتي الحفظ بالتجميد والطبخ فيما بعد، ويُعزى ذلك إلى الدور الذي يقوم به صمغ الكزانتان كعامل رابط للحفاظ على قوام المنتج ومكوناته، وتعزيز صفة العصيرية للمنتج لدى استبدال الدسم به، مما يسهم في منح القوام المتماسك والطري في آن واحد، ويتفق ذلك مع الدراسات المعدة من قبل Basati و Hosseini (2018)، و Rather وزملائه (2015)، و Sharaf وزملائه (2009)، كما ساهمت إضافة صمغ الكزانتان بنسبتي (1، 1.5)% في خفض الأثر السلبي لفترة الحفظ المجمد على منتج البرغر البقري ($P \leq 0.05$) مقارنة مع عينات الشاهد، من خلال القدرة في الاحتفاظ بقوام ورطوبة المنتج والتقليل من الآثار الجانبية لظاهرة فقدان الرطوبة وتجفاف السطح الخارجي للمنتج مما يسهم في إطالة عمر المنتجات المجمدة والتحكم بنمو البلورات الثلجية خلال المسافات البينية لخلايا النسيج العضلي لمنتج البرغر، ومنع انسيال مكونات الخلية خارج جدرانها لدى إزالة حالة التجميد عن المنتج، والتقليل من الطعم الرملي المرافق للعديد من المنتجات المجمدة، إضافة إلى المساعدة في الحفاظ على اللون الوردي لهذه المنتجات (Sharaf *et al.*, 2009; Barbut, 2015)، وعليه احتل عامل إضافة صمغ الكزانتان المرتبة الثانية في التأثير على الصفات الحسية لعينات البرغر البقري وذلك بعد عامل إضافة الدهن، ويظهر الشكل (46) تأثير المعاملات المدروسة في الصفات الحسية للبرغر البقري.



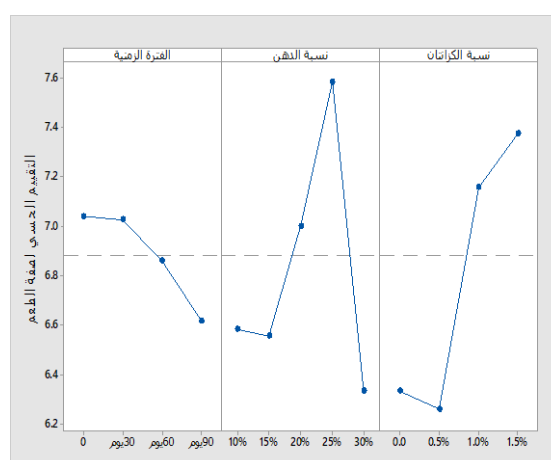
B



A



D



C

الشكل 46 المنحنى البياني لأثر فترة الحفظ بالتجميد في الصفات الحسية لعينات البرغر البقري

A: اللون، B: القوام، C: الطعم، D: القبول العام

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions & Recommendations

6. الاستنتاجات والتوصيات:

6. Conclusions & Recommendations:

6.1. الاستنتاجات :Conclusions:

خلصت نتائج هذه الدراسة إلى ما يلي:

- 1- ثبت وجود 32 عزلة محلية عائدة لجنس *Xanthomonas* بكتيريا من أصل 60 عينة نباتية (أي بنسبة 53.3%) وذلك بناءً على التوصيف المورفولوجي والاختبارات الحيوية الكيميائية، كما تم التأكد من وجود 6 عزلات عائدة لجنس *Xanthomonas* بكتيريا وتحديداً من النوع *campestris*، وذلك من أصل 32 عزلة (أي بنسبة 18.32%) باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR.
- 2- إمكانية إنتاج صمغ الكزانتان من خلال توظيف مخلفات الصناعات الزراعية كركائز بديلة عن مصادر الكربون النقي في مزارع التخمر المغمورة SmF التي يتم فيها تنمية بكتيريا *Xanthomonas campestris*، وما يترتب عن ذلك من خفض في تكاليف إنتاج صمغ الكزانتان.
- 3- اعتبار كل من مولاس الشوندر السكري كمصدر للكربون ونواتر الأمونيوم NH_4NO_3 كمصدر للنتروجين أفضل المصادر المدروسة التي يُمكن استخدامها في إنتاج صمغ الكزانتان بواسطة بكتيريا *X.campestris*.
- 4- ثبت وجود علاقة ارتباط ذات أثر معنوي ($P \leq 0.05$) ما بين مصدري الكربون والنتروجين وأثرها في عملية إنتاج صمغ الكزانتان، حيث بلغت قوتها في زيادة مردود إنتاج الصمغ إلى 97.8%، وفي زيادة كمية الكتلة الحيوية إلى 93.7%.
- 5- ثبتت معنوية تأثير كل من العوامل المدروسة الأربعة لعملية التخمر (درجة حرارة الحضانة، الفترة الزمنية للتخمير، درجة pH الوسط، سرعة الخلط) في مردودية إنتاج صمغ الكزانتان وذلك على مستوى الثقة ($P \leq 0.05$).

6- بينت النتائج بأن الظروف المثلى لإنتاج صمغ الكزانتان بالتخمير الوسط السائل SmF باستخدام كل من السكرور ومولاس الشوندر السكري ومصل اللبن كمصدر للكربون ونترات الأمونيوم كمصدر للنيتروجين كانت لدى درجة حرارة الحضانة (32) م° ومدة التخمير (90) ساعداً ودرجة pH (7) وسرعة الخلط (250) دورة/ دقيقة، والتي توافقت معها أيضاً زيادة في كمية الكتلة الحيوية لبكتيريا *X.campestris*.

7- أكدت نتائج تقنية FT-IR تطابق الخصائص الكيميائية لصمغ الكزانتان التجاري مع صمغ الكزانتان المنتج مخبرياً.

8- بينت النتائج تأثير لزوجة صمغ الكزانتان بشكل معنوي لدى اختلاف كل من التركيز المضاف من صمغ الكزانتان ودرجة حرارة المحلول المائي للصمغ، وفي المقابل، بقيت قيم اللزوجة ثابتة اتجاه تغيرات درجة pH الوسط، مما يدل على تمتع محاليل صمغ الكزانتان بصفات المحاليل المنظمة (الموقية).

9- بينت النتائج إمكانية إنتاج برغر منخفض الدهن مطابق للمنتج التقليدي عالي الدهن من حيث الصفات المدروسة (الكيميائية، الفيزيائية، الحسية، الجرثومية)، وذلك باستخدام صمغ الكزانتان كبديل عن الدهن، وقدرته في الحفاظ على هذه الصفات خلال فترة الحفظ بالتجميد، وبما يحقق شروط المواصفة القياسية السورية رقم 2836 للعام 2003.

10- تبين بأن التركيز الأفضل الذي يُنصح بإضافته من صمغ الكزانتان إلى منتج البرغر البقري منخفض الدهن، والذي يحافظ على كل من التركيب الكيميائي والصفات الفيزيائية والحسية للمنتج، هو كل من التركيز (1.5) % و (1) %.

6.2. التوصيات Recommendations:

1. دراسة أثر إجراء معاملات التطهير في رفع قدرة بكتيريا *Xanthomonas campestris* على إنتاج صمغ الكزانتان بكميات أكبر، إلى جانب التوسع في البحث عن أنواع أخرى من بكتيريا *Xanthomonas* معزولة محلياً يمكن توظيفها في إنتاج صمغ الكزانتان.

2. يوصى لدى استخدام مصل اللبن وغيره من مخلفات منتجات الحليب والأجبان كركائز في مزارع التخمر السائل وبغرض رفع الجدوى الاقتصادية من استخدامه، إجراء معالجة حامضية لهذه المخلفات بهدف تفكيك سكر اللاكتوز إلى وحدات سكرية بسيطة، مما يسهل على بكتيريا *Xanthomonas* استقلابها بشكل أسرع، وما ينعكس عن ذلك بشكل إيجابي في رفع مردودية إنتاج صمغ الكزانتان.
3. البحث عن بدائل رخيصة الثمن لكل من مصادر الكربون والنيتروجين النقية وذلك عبر توظيف المخلفات الزراعية والصناعية الناتجة عن الصناعات الغذائية، مثل إنتاج وتكرير زيت الزيتون ومعامل صناعة الشيبس.
4. تحديث المواصفة القياسية السورية الخاصة بالهمبرغر رقم 2836 للعام 2003 وخفض المحتوى الدهني للبرغر إلى (20%) بدلاً من (30%) تلبية للتوجهات الصحية العالمية حيال خفض المحتوى الدهني لمعظم المنتجات الغذائية إلى مستويات دون نسبة (20) %، والعمل على تضمين المواصفة بنداً خاصاً بمنتجات البرغر منخفضة الدهن وبدائل الدهن التي من الممكن إضافتها إلى منتج البرغر ومنها صمغ الكزانتان.
5. التوسع في دراسة أثر إضافة تراكيز أعلى من نسبة (1.5) % وذلك من صمغ الكزانتان في صفات البرغر البقري، والتوسع في دراسة استخدام أنواع أخرى من الغرويات المائية إلى جانب صمغ الكزانتان كخليط بديل عن الدهن في منتجات البرغر، وانتقاء نسب الإضافة الأفضل.

المراجع

References

7. المراجع العلمية: 7.

7. The References:

7.1. المراجع العربية:

الجباوي، انتصار. (2013). الشوندر السكري (العروة الصيفية)، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.

الزعبي، حسين؛ جبور، موفق؛ وجهاني، يوسف. (2016). تقارير الدول، التقرير الوطني عن التنوع البيولوجي للموارد الوراثية للأغذية والزراعة بدولة الجمهورية العربية السورية، منظمة الأغذية والزراعة للأمم المتحدة FAO، روما، إيطاليا.

العودة، كرم؛ وأبو الخير، صالح. (2005). اللحوم وتصنيع اللحوم- الجزء النظري- مقرر تكنولوجيا اللحوم. (المجلد الطبعة الثانية). منشورت جامعة دمشق. كلية الزراعة. دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية. م.ق.س. 830. (1990). دبس الشمندر ودبس القصب السكري (المولاس)، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية. م.ق.س. 2822. (2003). طرائق تحديد جراثيم المكورات العنقودية موجبة التخر، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية. م.ق.س. 2836. (2003). اللحوم ومنتجاتها- الهمبرغر، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية. م.ق.س. 2179. (2007). الاشتراطات الخاصة بالأحياء الدقيقة الواجب تحقيقها في المنتجات الغذائية- المراجعة الثانية، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية. م.ق.س. 3311. (2007). الكشف عن جراثيم الاشريكية القولونية O157:7H، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية م.ق.م. 85. (2013). تقدير النتروجين في اللحوم ومنتجاتها، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية. م.ق.س. 3779. (2015). أنظمة طيف الامتصاص الذري لقياس الملوثات المعدنية. الجزء 1: المتطلبات التقنية والقياسية المترولوجية، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية. م.ق.س. 3779. (2015). أنظمة طيف الامتصاص الذري لقياس الملوثات المعدنية. الجزء 2: إجراءات الاختبار، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

المواصفة القياسية السورية م.ق.س. 3892. (2018). تقدير درجة تخزين اللحوم ومنتجاتها باستخدام قرينة حمض الثيوباربيتوريك، وزارة الصناعة، هيئة المواصفات والمقاييس العربية السورية، دمشق، سورية.

حمزة، أمين؛ عزيزية، عبدالحكيم؛ ويازجي، صباح. (2014). المقارنة بين خلطات معجونة الكبد القابلة للمد /الباتيه/ المصنعة من مواد خام محلية و تحديد أفضلها. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، 30(2)، 199-210.

إياس، محمد؛ يازجي، صباح؛ والحاج علي، أنور. (2012). تحري الخمائر المعزولة محلياً من مصل اللبن وتصنيفها في بعض المحافظات السورية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، 28(1)، 371-384.

مندو، حجازي؛ أبو غرة، محمود؛ وبيرق، موفق. (2012). تقصي انتشار الأمراض البكتيرية على القمح والأعشاب المرافقة في سورية. مجلة وقاية النبات العربية، 30(2)، 192-198.

طلحة، محمد خير؛ دعاس، عز الدين. (2010). تأثير مكافحة البياض الدقيقي بالكبريت رشاً وتعفيراً في بعض الصفات التكنولوجية للشوندر السكري. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، 26(2)، 249-259.

فضول، جودت؛ معمار، أنور؛ بلال، حمزة؛ وأبو غرة، محمود. (1998). الآفات الزراعية ومكافحتها. منشورات جامعة دمشق. كلية الزراعة. دمشق، سورية.

قاسم، محمد بشير؛ جبار، يوسف اسماعيل؛ وخميس، طه عبدالوهاب. (2005). تأثير المصادر الكربونية والنيتروجينية المختلفة على إنتاج صمغ الزانثان من البكتيريا *ATCC Xanthomonas campestris* 13951. مجلة علوم الرافدين، 16(6)، 30-38.

قاسم، محمد بشير؛ والجادر، زينة وجيه. (2012). دراسة تأثير مصادر كربونية ونيروجينية مختلفة في إنتاج صمغ الزانثان بواسطة البكتيريا *Xanthomonas campestris* ATCC13951. مجلة التربية والعلم, 25: (2)، 58-64.

وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي. MOAAR. (2017). المجموعة الإحصائية السنوية. دمشق، سورية.

7.2. المراجع الأجنبية:

- Afshari, R., Hosseini, A., Mousavi Khaneghah, A., & Khaksar, R. (2017). Physico-chemical properties of functional low-fat beef burgers: Fatty acid profile modification. **LWT - Food Science and Technology**, 78, 325-331.
- AL-Mrazeeq, K. M., AL-abdullah, B. M., & AL-Ismaïl, K. M. (2010). Evaluation of some sensory properties and cooking loss of different burger formulations. **Italian Journal of Food Science**, 22(2), 134-142.
- Alonso, V., Muela, E., Tenas, J., & Calanche, J. B. (2016). Changes in physicochemical properties and fatty acid composition of pork following long-term frozen storage. **Eur Food Res Technol**, 242, 2119-27.
- Alvarez, A. M. (2000). Black rot of crucifers. In A. J. Slusarenko, R. S. Fraser, & L. C. van Loon, Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 21-52.
- Anderson, E., & Berry, B. (2001). Effects of inner pea fiber on fat retention and cooking yield in high fat ground beef. . **Food Research International**, 34(8), 689-694.
- Andres, S. C., Garcia, M. E., Zaritzky, N. E., & Califano, A. N. (2006). Storage stability of low-fat chicken sausages. **Journal of Food Engineering**, 72, 311-319.
- Asgarani, E., Ghashghaei, T., Soudi, M. R., & Alimadadi, N. (2014). Enterobacterial repetitive intergenic consensus (ERIC) PCR based genetic diversity of *Xanthomonas* spp. and its relation to xanthan production. **IRAN. J. MICROBIOL**, 7(1), 38-44.
- Ashdown-Franks, G., Vancampfort, D., Firth, J., Smith, L., Sabiston, C. M., Stubbs, M., et al. (2019). Association of leisure-time sedentary behavior with fast food and carbonated soft drink consumption among 133,555 adolescents

aged 12–15years in 44 low- and middle-income countries. **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**, 16-35.

Ashour, E. H., Saber, W. I., El-Sawah, M. M., Hauka, F. I., & M., K. M. (2000). Optimization of Fermentation Conditions for Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459. **Journal of Union of Arab Biologists, 9B, Microbiology and Virus**, 211-228.

A.O.A.C. Official Method. (2006). 920.39. Determination of Fat Content (Crude) or Ether Extract in Animal Feed. Maryland, USA.

Barbut, S. (2015). The Science of Poultry and Meat Processing. Guelph., Ontario., Canada.: University of Guelph.

Basati, A., & Hosseini, S. E. (2018). The Effects of Adding Xanthan and Carboxy Methyl Cellulose on Cooking and Sensory Characteristics of Soya Burger. **Journal of Food Biosciences and Technology, Islamic Azad University, Science and Research Branch**, 8(1), 59-64.

Beneddouch, B., Zellagui, R., & Beneddouch, E. (2014). Levels of Selected Heavy Metals in Fresh Meat from Cattle, Sheep, Chicken and Camel Produced in Algeria. **Annual Research & Review in Biology**, 4(8), 1260-126.

Bhat, S., Tripathi, A., Jan, K. N., & Maurya, K. K. (2018). Statistical Optimization of Xanthan Gum Production and its Characterization Using *Pseudomonas aeruginosa* NCIM (2948) in Submerged Fermentation (SMF) Process. **Journal of Nanotechnology and Materials Science**, 1-18.

Cadmus, M. C., Rogovin, S. P., Burton, K. A., Pittsley, J. E., Knutson, C. D., & Jeanes, A. (1976). Colonial variation in *Xanthomonas campestris* NRRL 8-1459 and characterization of the polysaccharide from a variant strain. **Can. J. Microbiol**, 22, 942-948.

Carignatto, C. R., Oliveira, K. S., De Lima, V. M., & De Oliva Neto, P. (2011). New Culture Medium To Xanthan Production By *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. **Indian J Microbiol**, 51(3), 283–288.

Chee, B. S., & Nugent, M. (2019). Electrospun natural polysaccharide for biomedical application. In M. S. Hasnain, & A. K. Nayak, Natural Polysaccharides in Drug

- Delivery and Biomedical Applications, Westmeath, Ireland: Academic Press, 589-615.
- Codex Alimentarius International Food Standards, CXS 289-1995, C. A. (2018). Codex standard for whey powders, codex stan a-15-1995. Last modified 2018. Geneva, swiss.
- De, J., Cano-Barrita, P. F., & León-Martínez, F. (2016). Biopolymers with viscosity-enhancing properties for concrete. In F. Pacheco-Torgal, V. Ivanov, N. Karak, & H. Jonkers, *Biopolymers and Biotech Admixtures for Eco-Efficient Construction Materials*. Duxford, UK: Woodhead Publishing, 221-252.
- Dejean, G. (2011). **Caractérisation et Conservation d'un nouveau système CUT associé à l'utilisation du xylane chez *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*: implications en écologie microbienne**. PhD thesis, Sciences Ecologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingénieries (SEVAB), Toulouse: Université de Toulouse, 1-264.
- De Jesus Assis, D., Brandão, L. V., De Sousa Costa, L. A., Figueiredo, T. V., Sousa, L. S., Padilha, F. F., *et al.* (2014). A study of the effects of aeration and agitation on the properties and production of xanthan gum from crude glycerin derived from biodiesel using the response surface methodology. **Appl Biochem Biotechnol**, 172(5), 2769-2785.
- Delgado, L. L., & Masuelli, M. (2019). Polysaccharides: Concepts and Classification . **Evolution in Polymer Technology Journal**, 2(2), 1-6.
- Demirci, Z. O., Yılmaz, I., & Demirci, A. S. (2014). Effects of xanthan, guar, carrageenan and locust bean gum addition on physical, chemical and sensory properties of meatballs. **Journal of Food Science and Technology**, 51(5), 936-942.
- Denardin, N. D., & Agostini, V. D. (2013). Detection and quantification of *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* and its variant fuscans in common bean seeds. **Journal of Seed Science**, 35(4), 428-434.
- Dessipri, E., & Rao, V. M. (2016). Xanthan gum Chemical and Technical Assessment (CTA), Columbus, U.S.A.: Food and Agriculture Organization, FAO.

- Doidge, E. M. (1921). A Tomato Canker. **Annals of Applied Biology**, 7(4), 407-430.
- Donot, F., Fontana, A., Baccou, J., & Schorr-Galindo, S. (2012). Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. **Carbohydrate Polymers**, 87(15), 951-962.
- Dowson, D. W. (1939). On the systematic position and generic names of the Gram-negative bacterial plant pathogens. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene*, 100, 177-193.
- El Enshasy, H., Then, C., Othman, N. Z., Al Homosany, H., Sabry, M., Sarmidi, M. R., *et al.* (2011). Enhanced xanthan production process in shake flasks and pilot scale bioreactors using industrial semidefined medium. **African Journal of Biotechnology**, 10(6), 1029-1038.
- EPA. (1998). EPA Method 7473 (SW-846): Mercury in Solids and Solutions by Thermal Decomposition, Amalgamation, and Atomic Absorption Spectrophotometry. Washington, U.S.A: United States Environmental Protection Agency.
- Esgalhado, M. E., Roseiro, J. C., & Amaral Collaço, M. T. (1995). Interactive effects of pH and temperature on cell growth and polymer production by *Xanthomonas campestris*. **Process Biochemistry**, 30(7), 667-671.
- European and Mediterranean Plant Protection Organization. EPPO .(2013) .PM 7/110 (1) *Xanthomonas* spp. (*Xanthomonas euvesicatoria*, *Xanthomonas gardneri*, *Xanthomonas perforans*, *Xanthomonas vesicatoria*) causing bacterial spot of tomato and sweet pepper, **EPPO Bulletin**, 43(1), 7-20.
- European Standard. EN 12630.(1999). Fruit and vegetable juices- Determination of glucose, fructose, sorbitol and sucrose contents-Method using high-performance liquid chromatography. Brussels, Belgium.
- Faria, S., De Oliveira Petkowicz, C. L., De Moraes, S. A., Terrones, M. G., De Resende, M. M., De Franca, F. P., *et al.* (2011). Characterization of xanthan gum produced from sugar cane broth. **Carbohydrate Polymers**, 86, 469-476.

- FDA, (2010). Overview of food ingredients, additives & colors. U.S.A: International Food Information Council (IFIC) and U.S. Food and Drug Administration (FDA).
- Gahruie, H. H., Hosseini, S. M., Taghavifard, M. H., Eskandari, M. H., Golmakani, M. -T., & Shad, E. (2017). Lipid oxidation, color changes, and microbiological quality of frozen beef burgers incorporated with shirazi thyme, cinnamon, and rosemary extracts, **Hindawi Journal of Food Quality**, 1-9.
- Garcia-Ochoa, F., Santos, V. E., Casas, J. A., & Gomez, E. (2000). Xanthan gum: production, recovery, and properties, **Biotechnology Advances**, 18, 549-579.
- Garman, H. (1890). A bacterial disease of cabbage, **Kentucky Agric Exp Stat Rep**, 3, 43-46.
- Gehan Kassem, M. A., & Emara, M. (2010). Quality and Acceptability of Value-Added Beef Burger. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, 5(1), 14-20.
- Ghazal, S. M. A., Elsayed, W. S., Badr, U. M., Gebreel, H. M., & Khalil, K. M. A. (2011). Genetically Modified Strains of *Xanthomonas campestris* Higher Xanthan Producer and Capable to Utilize Whey. **Current Research in Bacteriology**, 4(2), 44-62.
- Gomashe, A. V., Dharmik, P. G., & Fuke, P. S. (2013). Optimization and Production of Xanthan Gum by *Xanthomonas Campestris* NRRL-B-1449 from Sugar Beet Molasses. **IJES**, 2, 52-55.
- González, M. G., Romero, S. M., Arjona, M., Larum, D. G., & Vaamonde, G. (2017). Microbiological quality of Argentinian paprika. **Revista Argentina de Microbiología**, 49(4), 339-346.
- Gumus, T., Demirci, A. S., Mirik, M., Arici, M., & Aysan, Y. (2010). Xanthan Gum Production of *Xanthomonas* spp. Isolated from Different Plants. **Food science and biotechnology**, 19(1), 201-206.
- Hagar, A. S., & Arendt, E. K. (2013). Influence of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume,

crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free breads based on rice, maize, teff and buckwheat. **Food Hydrocolloids**, 32, 195-203.

Hartmann, G. L., Teixeira, F., Soares, J. M., & da Silva, A. K. (2020). Effect of fat replacement by fructooligosaccharide in hamburger: physicochemical, technological and sensorial analysis. **International Journal for Innovation Education and Research**, 8(3), 15-25.

Honma, T., Nagura, S., & Murofushi, K. (1994, 8 25). Patent No. US5580763A. U.S.A.

Ibrahim, M., Salama, M. F., & Hussein, A. A. (2011). Production of functional low-fat chicken burger. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, 5(12), 3149-3154.

International Organization for Standardization. ISO 1442 .(1997) .International standard for Meat and meat products - Determination of moisture content (Reference method), Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 10504. (1998). International standard for Meat and meat products - Determination of total ash. Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 936. (1998). Starch derivatives- Determination of the composition of glucose syrups, fructose syrups and hydrogenated glucose syrups- Methods using high-performance liquid chromatography. Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 6579 .(2002) .Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp. Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 4833 .(2003) .Microbiology of food and animal feeding stuffs- horizontal method for the enumeration of microorganisms- colony -count technique at 30°C, Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 20837 .(2006) .Microbiology of food and animal feeding stuffs — Polymerase chain reaction (PCR) for the detection of food-borne (PCR) for the detection of food-borne preparation for qualitative detection, Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 4831 .(2006) .Microbiology of food and animal feeding stuffs - horizontal method for the detection and enumeration of coliforms- most probable nubmer technigue .Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 4832 .(2006) .International standard for Horizontal methods for the enumeration of coliformes – colony count technique, 3rd Ed. Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 20838. (2006). Microbiology of Food and Animal feeding stuffs- Polymerase Chain Reaction (PCR) for the detection of Food-borne pathogens- Requirements for amplification and detection for qualitative methods. Geneva. Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 7218. (2007). Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations. Third edition. Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 11868. (2007). Heat-treated milk- Determination of lactulose content- Method using high-performance liquid chromatography. Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 21527-2 .(2008) .Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds — Part 2: Colony count technique in products with water activity less than or equal to 0,95 .Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 6887-1 .(2017) .Microbiology of the food chain — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules

for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions .Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. ISO 6887-2 .(2017) .Microbiology of the food chain- preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination- Part 2: Specific rules for the preparation of meat and meat products .Geneva, Switzerland.

Ji-Han, K., Min-Young, J., & Chi-Ho, L. (2019). Physicochemical and sensory characteristics of commercial, frozen, dry, and wet-aged Hanwoo sirloins. **Asian-Australas J Anim Sci**, 30(10), 1621-1629.

Juan-Mei, L., & Shao-Ping, N. (2016). The functional and nutritional aspects of hydrocolloids in foods. **Food Hydrocolloids**, 53, 46-61.

Kassim, M. B. (2011). Production and characterization of the polysaccharide ‘‘xanthan gum’’ by a local isolate of the bacterium *Xanthomonas campestris*. **African Journal of Biotechnology**, 10(74), 16924-16928.

Kawahara, H., & Obata, H. (1998). Production of xanthan gum and ice-nucleating material from whey by *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 49, 353–358.

Khalil, A. H. (2000). Quality characteristics of low-fat beef patties formulated with modified corn starch and water. **Food Chemistry**, 68(1), 61-68.

Khosravi-Darani, K., Reyhani, F. S., Nejad, B. N., & Farhadi, B. N. (2011). Bench scale production of xanthan from date extract by *Xanthomonas campestris* in submerged fermentation using central composite design. **African Journal of Biotechnology**, 10(62), 13520-13527.

Khouryieh, H., Puli, G., Williams, K., & Aramouni, F. (2015). Effects of xanthan–locust bean gum mixtures on the physicochemical properties and oxidative stability of whey protein stabilised oil-in-water emulsions. **Food Chem**, 167, 340–348.

Kumara Swamy, M., Khan, B. A., Rohit, K. C., & Purushotham, B. (2012). Effect of carbon and nitrogen sources on the production of xanthan gum from

Xanthomonas campestris isolated from soil. **Archives of Applied Science Research**, 4(6), 2507-2512.

Kumar, M., Sharma, B. D., & Kumar, R. R. (2007). Evaluation of sodium alginate as a fat replacer on processing and shelf-life of low-fat ground pork patties, **Asian-Aust. J. Anim. Sci**, 588-597.

Kuppuswami, G. M. (2014). Production of Xanthan Gum, Encyclopedia of Food Microbiology, 2(1), 816-821, UK: Academic Press, Elsevier.

Lachke, A. (2004). Xanthan — A versatile gum. **Resonance**, 9(10), 25-33.

Lamkey, J. M. (2009). Ch. 3 Nonstarch Hydrocolloids. In: Ingredients in meat products: Properties, functionality and applications, New York. U.S.A: Springer Science & Business Media.

Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). Sensory evaluation of food: principles and practices. New York, U.S.A: Springer Pub.

Letisse, F., Chevallereau, P., Simon, J.-L., & Lindley, N. D. (2001). Kinetic analysis of growth and xanthan gum production with *Xanthomonas campestris* on sucrose, using sequentially consumed nitrogen sources. **Appl. Microbiol. Biotechnol**, 55, 417-422.

López-López, I., Cofrades, S., Cañeque, V., Diaz, M. T., López, O., & Jiménez-Colmenero, F. (2011). Effect of cooking on the chemical composition of low-salt, low-fat Wakame /olive oil added beef patties with special reference to fatty acid content. **Meat Sci**, 89.(1), 27-34.

Luvielmo, M. M., Borges, C. D., De Oliveira Toyama, D., Vendruscolo, C. T., & Pippa Scamparini, A. R. (2016). Structure of xanthan gum and cell ultrastructure at different times of alkali stress. **Brazilian journal of microbolgy**, 47(1), 102-109.

Manjunath, R. (2012). **Studies On Xanthan Gum Producing Xanthomonas SPP.** PhD Thesis. Microbiology Department. Indian Agricultural Research Institute. New Delhi. India. 1-71.

- Marcenkova, T., & Rucins, M. (2009). Dynamics of foodborne diseases in latvia and microbiological investigations of ready to eat foods from catering establishments. **Medicinos Teorija ir Praktika**, 15(4), 356-365.
- Milani, J., & Maleki, G. (2012). Hydrocolloids in food industry. in b. valdez, food industrial processes: Methods and equipment. Rijeka, Croatia: IntechOpen, 17-38.
- Mondal, K. K., & Mani, C. (2009). ERIC-PCR-generated genomic fingerprints and their relationship with pathogenic variability of *Xanthomonas campestris* pv. *punicae*, the incitant of bacterial blight of pomegranate. **Current Microbiology**, 59(6), 616-20.
- Moosavi-Nasab, M., Poshangeh, S., & Rafsanjani, M. (2010). Effect of fermentation time on xanthan gum production from sugar beet molasses. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, 4(8), 1018-1021.
- Morris, V. (2006). Bacterial Polysaccharides. In M. S. Allistair, O. P. Glyn, & A. W. Peter, Food polysaccharides and their applications (2nd ed., pp. 413-454). U.S.A: CRC Press.
- Moshaf, S., Hamidi-Esfahani, Z., & Azizi, M. H. (2014). Statistical optimization of xanthan gum production and influence of airflow rates in lab-scale fermentor. **Applied Food Biotechnology**, 1(1), 17-24.
- Mudoi, P., Bharali, P., & Konwa, B. K. (2013). Study on the effect of ph, temperature and aeration on the cellular growth and xanthan production by *Xanthomonas campestris* using waste residual molasses. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, 3(2), 1-6.
- Murad, H. A., Abo-Elkhair, A. G., & Azzaz, H. H. (2019). Production of xanthan gum from nontraditional substrates with perspective of the unique properties and wide industrial applications. **JSMC Microbiology**, 1-6.
- Murad, H. A., Mohamed, S. H., & Abu-El-Khair, A. G. (2017). Impact of amino acids, nitrogen source and buffering system on xanthan yield produced on hydrolyzed whey lactose. **Biotechnology**, 16, 69-76.
- Nabors, L. O., & Lemieux, R. (1993). Histroy of the commercial development of low-calorie foods. In A. M. Altschul, Lwo-Calorie Foods Handbook. Washington, U.S.A: MarcsI Dekker, INC, 91-109.

- Naqvi, S. F., Haq, I. M., Khan, M. A., Tahir, M., Ali, Z., & Rehman, H. M. (2013). Morphological and biochemical characterization of *Xanthomonas campestris* (pammel) Dawson pv. sesami and its management by bacterial antagonists. **Pakistan Journal of Agricultural Science**, 50(2), 229-235.
- Niamnuy, C., Devahastin, S., & Soponronnarit, S. (2008). Changes in protein compositions and their effects on physical changes of shrimp during boiling in salt solution. **J Food Chem**, 108, 165-175.
- Nicolaus, B., Kambourova, M., & Onerc, E. T. (2010). Exopolysaccharides from extremophiles: from fundamentals to biotechnology, **Environmental Technology**, 10, 1131-1145.
- Niknezhad, S. V., Asadollahi, M., Zamani, A., Biria, D., & Doostmohammadi, M. (2015). Optimization of xanthan gum production using cheese whey and response surface methodology. **Food Science and Biotechnology**, 24, 453–460.
- Nitschke, M., & Thomas, R. W. (1995). Xanthan gum production by wild – type isolates of *Xanthomonas campestris*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, 11, 502-504.
- Nitschke, M., Rodrigues, V., & Schinatto, L. F. (2001). Formulation of whey-based media for xanthan gum production by *X. campestris* C7L isolate. **Ciênc. Tecnol. Aliment**, 21(1), 82-85.
- Norton, I. T., Fosten, T., & Brown, R. (1998). The Science and Technology of Fluid Gels. Gums and stabilisers for the food industry, 9, 259-269, Cambridge, UK: The Royal Society of Chemistry.
- Oroszvari, B. B., Joholm, I., & Tornberg, E. (2005). The mechanisms controlling heat and mass transfer on frying of beef burgers. III. Mass transfer evolution during frying. **Journal of Food Engineering**, 76(2), 169-178.
- Ozdal, M., & Kurbanoglu, E. B. (2019). Use of chicken feather peptone and sugar beet molasses as low cost substrates for xanthan production by *Xanthomonas campestris* MO-03. **Fermentation**, 5(9), 1-9.
- Pal, M., Ayele, Y., Patel, A. S., & Dulo, F. (2018). Microbiological and hygienic quality of meat and meat products. **Beverage & Food World**, 45(5), 21-27.

- Palaniraj, A., & Jayaraman, V. 2. (2011). Production, recovery and applications of xanthan gum by *Xanthomonas campestris*. **Journal of Food Engineering**, 106(1), 1-12.
- Papagianni, M., Psomas, S. K., Batsilas, L., Paras, S. V., Kyriakidis, D. A., & Liakopoulou-Kyriakides, M. (2001). Xanthan production by *Xanthomonas campestris* in batch cultures. **Process Biochemistry**, 37(1), 73-80.
- Park, Y. W. (2011). Recent trends in consumption of animal products and food safety research in the united states. consumer-oriented food safety and consumption trend of animal products. Suwon, South Korea, 1-30.
- Pazur, J. H., Miskiel, F. J., & Marchetti, N. T. (1995). Properties and applications of anti-xanthan antibodies, **Carbohydrate Polymers**, 27(2), 85-91.
- Praagman, J., Beulens, J. W., Alssema, M., Zock, P. L., Wanders, A. J., Sluijjs, I., *et al.* (2016). The association between dietary saturated fatty acids and ischemic heart disease depends on the type and source of fatty acid in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition-Netherlands cohort. **Am. J. Clin. Nutr.** 103, 356-365.
- Psomas, S. K., Liakopoulou-Kyriakides, M., & Kyriakidis, D. A. (2007). Optimization study of xanthan gum production using response surface methodology. **Biochemical Engineering Journal**, 35, 273- 280.
- Ramalingam, C., Priya, J., & Mundra, S. R.-3. (2014). Applications of microbial polysaccharides in food industry. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, 27(1), 322-324.
- Ramberg, J. R., Nelson, E. D., & Sinnott, R. A. (2010). Immunomodulatory dietary polysaccharides: a systematic review of the literature, **Nutrition Journal**, 9(54), 1-22.
- Rather, S. A., Masoodi, F. A., Akhter, R., Gani, A., Wani, S. M., & Malik, A. H. (2015). Xanthan gum as a fat replacer in goshtaba-a traditional meat product of India: Effects on quality and oxidative stability. **Journal of Food Science and Technology**, 52, 8104–8112.
- Rather, S. A., Masoodi, F. A., Akhter, R., Rather, J. A., Gani, A., Wani, S. M., *et al.* (2016). Application of guar–xanthan gum mixture as a partial fat replacer in meat emulsions. **J Food Sci Technol.** 53(6), 2876–2886.

- Reedy, J. (2016). How the u.s. low-fat diet recommendations of 1977 contributed to the declining health of americans. University of Connecticut, Honors Scholar Theses., 1-43.
- Rosalam, S., & England, R. (2006). Review of xanthan gum production from unmodified starches by *Xanthomonas comprestris* sp. **Enzyme and Microbial Technology**, 39(2), 197-207.
- Saddler, G. S., & Bradbury, J. F. (2005). Xanthomonadales ord. nov. In D. H. Bergey, D. J. Brenner, N. R. Krieg, & J. T. Staley, Bergey's manual of systematic bacteriology. Volume 2. The proteobacteria. Part B. The gammaproteobacteria (2 ed., Vol. 2, pp. 63-122). Berlin: Springer.
- Sahin, F., & Miller, S. A. (1996). Characterization of Ohio strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. **Plant Disease**, 80(7), 773-778.
- Sahin, S., Sumnu, G., & Altunakar, G. (2005). Effects of batters containing different gum types on the quality of deep-fat fried chicken nuggets. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 85(14), 2375–2379.
- Sanchez-Zapata, E., Munoz, C. M., Fuentes, E., Fernandez-Lopez, J., Sendra, E., Sayas, E., *et al.* (2010). Effect of tiger nut fibre on quality characteristics of pork burger. **Meat Science**, 85(1), 70-86.
- Savvides, A. L., Katsifas, E. A., Hatzinikolaou, D. G., & Karagouni, A. D. (2012). Xanthan production by *Xanthomonas campestris* using whey permeate medium. **World J Microbiol Biotechnol**, 28, 2759–2764.
- Selva Mohan, T., & Babitha, R. (2010). Influence of nutritional factors on xanthan production by *Xanthomonas malvacearum*. **Archives of Applied Science Research**, 2(6), 28-36.
- Shaltout, F. A., Maarouf, A., & Mohamed, H. H. (2017). Bacteriological aspect of frozen beef burger. **EC Nutrition**, 10(4), 162-172.
- Shanks, B. C., Wulf, D. M., & Maddock, R. J. (2002). Technical note: The effect of freezing on Warner-Bratzler shear force values of beef longissimus steaks across several post-mortem aging periods. **J Anim Sci**, 80(8), 2122-2125.

- Sharaf, A. M., Ebrahium, M. E., Ammar, M. S., & Abd El-Ghany, M. E. (2009). Influence of using moringa meal flour as meat extender on quality characteristics of beef burger patties during frozen storage. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, 4(1), 32-40.
- Sharma, B. R., Naresh, L., Dhuldhoya, N. C., Merchant, S. U., & Merchant, U. C. (2006). Xanthan gum – a boon to food industry. **Food Promotion Chronicle**, 1(5), 27-30.
- Shu, C., & Yang, S. (1990). Effects of temperature on cell growth and xanthan production in batch cultures of *Xanthomonas campestris*. **Biotechnol Bioeng**, 35(5), 454-68.
- Sikora, M., & Kowalski, S. (2007). Polysaccharide – polysaccharide hydrocolloids interactions. In *Starch: Achievements in understanding of structure and functionality*. Castle Donington, Derby, United Kingdom: Nova Science Pub Inc, 107-126.
- Simões, T. H., Gonçalves, E. R., Rosato, Y. R., & Mehta, A. (2007). Differentiation of *Xanthomonas* species by PCR-RFLP of rpfB and atpD genes. **FEMS Microbiology Letters**, 271(1), 33-39.
- Singh, R. P., & Cross, H. R. (2020, 2 5). Meat processing, Food Standard agency - meat processing. retrieved 4 12, 2020, from Encyclopædia Britannica, Inc.: Meat processing, Food Standard Agency - Meat processing.
- Slavov, A. K. (2017). General characteristics and treatment possibilities of dairy wastewater – a review. **Food Technol Biotechnol**, 55(1), 14-28.
- Soleymanpour, Z., Nikzad, M., Talebnia, F., & Niknezhad, V. (2018). Xanthan gum production from acid hydrolyzed broomcorn stem as a sole carbon source by *Xanthomonas campestris*. **Biotech**, 8(296), 1-12.
- Soudi, M. R., Alimadadi, N., & Ghadam, P. (2011). Minimal phenotypic test for simple differentiation of *Xanthomonas campestris* from other yellow-pigmented bacteria isolated from soil. **Iran Journal of Microbiology**, 3(2), 84-91.
- Speedy, A. W. (2003). Global production and consumption of animal source foods . **American Society for Nutritional Sciences**, 4048-4053.

- Subramaniyam, R., & Vimala, R. (2012). Solid state and submerged fermentation for the production of bioactive substances: a comparative study. **International Journal of Science and Nature**, 3(3), 480-486.
- Sutherland, I. (2002). A Sticky business. microbial polysaccharides: current products and future trends. **Microbiology Today**, 70-71.
- Szczesny, R., Jordan, M., Schramm, C., Schulz, S., Cogez, V., Bonas, U., *et al.* (2010). Functional characterization of the Xcs and Xps type II secretion systems from the plant pathogenic bacterium *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. **New Phytologist**, 187, 983-1002.
- Transparency Market Research, T. (2019). Xanthan gum market. Canada, U.S.A: Transparency Market Research.
- Troy, D. J., Desmond, E. M., & Buckley, D. J. (1999). Eating quality of low-fat beef burgers containing fat-replacing functional blends. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 79(4), 507-516.
- Trudso, J. E. (1991). Hydrocolloids. In J. Smith, Food additive user's handbook. Canada: Blackie and Son Ltd , 223-235.
- Tuncay Gumus, A., Demirci, S., Mirik, M., Arici, M., & Aysan, Y. (2010). Xanthan Gum production of *Xanthomans* spp. isolated from different plants. **Food Sci.Biotechnol.** 19(1), 201-206.
- Ulu, H. (2006). Effects of carrageenam and guar gum on the cooking and textual properties of low fat meatballs. **Food Chemistry**, 95(4), 600-605.
- USDA. (2016). Xanthan Gum- Handling/Processing. Washington, U.S.A: ICF International for the USDA National Organic Program.
- Vazquez, A., & Pique, T. M. (2016). Biotech admixtures for enhancing portland cement hydration. In F. Pacheco-Torgal, V. Ivanov, N. Karak, & H. Jonkers, Biopolymers and Biotech Admixtures for Eco-Efficient Construction Materials. Duxford, UK: Woodhead Publishing, 81-96.
- Veiga de Moura, M. R., & Moreno, R. B. (2019). Concentration, Brine Salinity and Temperature effects on Xanthan Gum Solutions Rheology. **Appl.Rheol.** 29(1), 69-79.

- Vicente, J. G., & Holub, B. E. (2013). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. **Molecular Plant Pathology**, 14(1), 2-18.
- Wang, A., & Wang, W. (2013). Gum-g-Copolymers: Synthesis, Properties, and Applications. In S. Kalia, & M. W. Sabaa, Polysaccharide Based Graft Copolymers. Berlin, Germany: Springer, 149-203
- Woiciechowski, L., Soccol, R. C., Rocha, N. S., & Pandey, A. (2004). Xanthan gum production from cassava bagasse hydrolysate with *Xanthomonas campestris* using alternative sources of nitrogen. **Appl Biochem Biotechnol**, 118(1-3), 305-312.
- Xie, J-I., Jin, M-L., Morris, G. A., Zha, Q-A., CHEN, H-Q., YI, Y. (2016). Advances on bioactive polysaccharides from medicinal plants **.Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 56, S60-S84.
- Yagoup, E. M., Osama, A., Elrofaei, N. A., & Goda, O. A. (2017). Chemical composition of sudanese burgers and their impact on health as nutrients. **Journal of Food and Nutrition Sciences**, 5(3), 69-72.
- Yang, Y., & Sha, M. (2020). A Beginner's guide to bioprocess modes – batch, fedbatch, and continuous fermentation. Connecticut, U.S.A: Eppendorf Inc.
- Youssef, M. K., & Barbut, S. (2011). Effects of two types of soy protein isolates, native and preheated whey protein isolates on emulsified meat batters prepared at different protein levels. **Meat Sci**, 87(1), 54-60.
- Yu, Q. P., Feng, D. Y., Xiao, J., Wu, F., Jun- He, X., Dong, T., *et al.* (2017). Studies on meat color, myoglobin content, enzyme activities, and genes associated with oxidative potential of pigs slaughtered at different growth stages. **Asian-Australas J Anim Sci**, 30(12), 1739-1750.
- Zhang, X., Deyong, L., Meng, Q., He, C., & Ren, L. (2016). Effect of mulberry leaf extracts on color, lipid oxidation, antioxidant enzyme activities and oxidative breakdown products of raw ground beef during refrigerated storage. **Journal of Food Quality**, 39, 159-170.

الملاحق

Appendices

8. Appendices:

الملحق 1

جدول 1. تقدير الكتلة الحيوية الجافة الناتجة عن بكتيريا *Xanthomonas campestris* باستخدام مصادر مختلفة من الكربون والنيتروجين

الكتلة الحيوية غ/ل	سرعة الخلط دورة/دقيقة	pH	الزمن ساعة	درجة الحرارة م	مصدر النيتروجين	مصدر الكربون
5.47	250	7	60	32	KNO ₃	السكروز
4.23	250	7	60	32	NH ₄ Cl	
3.82	250	7	60	32	(NH ₄) ₂ SO ₄	
4.55	250	7	60	32	NH ₄ NO ₃	
5.08	250	7	60	32	pepton	
6.21	250	7	60	32	KNO ₃	مصل اللبن
4.20	250	7	60	32	NH ₄ Cl	
3.89	250	7	60	32	(NH ₄) ₂ SO ₄	
6.74	250	7	60	32	NH ₄ NO ₃	
6.22	250	7	60	32	pepton	
4.65	250	7	60	32	KNO ₃	مولاس الشوندر السكري
4.32	250	7	60	32	NH ₄ Cl	
4.18	250	7	60	32	(NH ₄) ₂ SO ₄	
7.27	250	7	60	32	NH ₄ NO ₃	
4.77	250	7	60	32	pepton	

جدول 2. تقدير كل من الكتلة الحيوية الجافة الناتجة عن بكتيريا *Xanthomonas campestris* وكمية صمغ الكزانتان الناتجة لأفضل معاملات مطبقة في أمثلة إنتاج صمغ الكزانتان.

باستخدام مصل اللبن			باستخدام مولاس الشوندر السكري			باستخدام السكروز		
صمغ الكزانتان غ/ل	الكتلة الحيوية غ/ل	المعاملة	صمغ الكزانتان غ/ل	الكتلة الحيوية غ/ل	المعاملة	صمغ الكزانتان غ/ل	الكتلة الحيوية غ/ل	المعاملة
10.1	4.1	2	11.4	5.00	2	10.3	4.20	2
12.5	5.7	3	17.3	12.30	3	12.8	5.97	3
11.4	4.7	4	14.2	8.76	4	13.4	7.75	4
9.6	3.5	6	10.5	5.02	6	11.9	4.67	5
11.5	4.2	7	15.6	10.66	7	9.3	3.51	6
11.3	5.2	8	13.8	7.82	8	12.1	5.41	7
10.9	5.1	12	10.3	4.86	11	12.4	6.09	8
10.7	4.6	15	13.8	7.36	12	9.5	3.86	11
12.9	6.0	16	13.6	6.86	15	12.3	6.19	12
17.5	12.6	24	14.4	9.60	16	11.9	5.55	16
8.4	4.1	26	18.3	14.95	24	16.3	10.39	24
11.9	5.7	28	8.4	3.18	26	12.5	6.77	28
12.0	7.1	29	11.8	4.87	28	12.5	5.88	29
			13.58	5.99	29			

جدول 3. متوسط قيم لزوجة صمغ الكزانتان باختلاف كل من عوامل درجة الحرارة ودرجة pH الوسط وتركيز الصمغ المضاف.

المعاملة	تركيز صمغ الكزانتان %	درجة pH الوسط	درجة الحرارة °م	لزوجة صمغ الكزانتان (cP)
1	0.5	3.5	25	1025
2			40	908
3			60	900
4			80	812
5		5	25	932
6			40	815
7			60	752
8			80	695
9		7	25	950
10			40	889
11			60	754
12			80	655
13		9	25	899
14			40	754
15			60	692
16			80	542
17	1	3.5	25	1452
18			40	1359
19			60	1125
20			80	1098
21		5	25	1329
22			40	1238
23			60	1125
24			80	989
25		7	25	1005
26			40	898
27			60	899
28			80	925

1000	25	9		29
910	40			30
859	60			31
745	80			32
2540	25	3.5		33
2100	40			34
2082	60			35
1986	80			36
1958	25	5	1.5	37
1844	40			38
1758	60			39
1666	80			40
2669	25	7		41
2578	40			42
2458	60			43
2320	80			44
2459	25	9		45
2330	40			46
2269	60			47
2104	80			48

استمارة تقييم حسي



الرقم :

التاريخ :

أمامك ثلاثة عشرة عينة من البرغر البقري، أرجو التكرم بتقييم كل عينة على حده آخذا بعين الاعتبار جميع العوامل الحسية خاصة اللون والطعم والقوام والمظهر العام ، معبرا عن ذلك بدرجة القبول أو عدم القبول وكما يلي :

مستوى القبول الدرجة

- 9 مقبول بدرجة عالية جدا
8 مقبول بدرجة عالية
7 مقبول بدرجة متوسطة
6 مقبول بدرجة قليلة
5 بين المقبول وعدم المقبول
4 غير مقبول بدرجة قليلة
3 غير مقبول بدرجة متوسطة
2 غير مقبول بدرجة عالية
1 غير مقبول بدرجة عالية جدا

رقم العينة	تقييم اللون	تقييم الطعم	تقييم الرائحة	التقييم الكلي
1				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				
12				
13				

ملاحظات عامة :

.....

.....

الملحق 3

جدول 4. نتائج المحتوى الكيميائي لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

المكرر	الفترة الزمنية يوم	الدهن %	الرطوبة %	الرماد %	البروتين %	الترنخ TBARS (ملغ MDA/كغ)	الملح %
1	مباشرة	29	47.68	1.8	21.52	0.36	2.1
1	30 يوم	28.3	48.65	1.7	21.35	0.37	2.1
1	60 يوم	27.9	47.8	1.69	20.12	0.39	2.1
1	90 يوم	27.5	46.2	1.69	20.00	0.4	2
2	مباشرة	29.4	47.54	1.8	21.26	0.37	2.1
2	30 يوم	28.9	48.08	1.8	21.22	0.37	2
2	60 يوم	28	47.5	1.7	20.10	0.38	2
2	90 يوم	27.2	46.5	1.7	20.00	0.39	2
3	مباشرة	29.5	47.34	1.8	21.32	0.36	2.1
3	30 يوم	28.5	48.47	1.79	21.24	0.37	2
3	60 يوم	28.1	47.7	1.78	21.10	0.38	2
3	90 يوم	27.5	46.7	1.69	20.40	0.4	2

جدول 5. نتائج الاختبارات الفيزيائية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد

الفترة الزمنية (يوم)	فاقد الطبخ %	التقلص (تغير القطر) %
مباشرة	23	23
30 يوم	23	23
60 يوم	22	23
90 يوم	23	24

جدول 6. نتائج تقدير الملوثات المعدنية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد

المكررات	الفترة الزمنية (يوم)	الرصاص مغ/كغ	الزنبق مغ/كغ
1	مباشرة	0.0228	0.45
1	30 يوم	0.0227	0.43
1	60 يوم	0.0226	0.42
1	90 يوم	0.0225	0.42
2	مباشرة	0.0228	0.45
2	30 يوم	0.0227	0.43
2	60 يوم	0.0226	0.42
2	90 يوم	0.0225	0.42
3	مباشرة	0.0228	0.45
3	30 يوم	0.0227	0.43
3	60 يوم	0.0226	0.42
3	90 يوم	0.0225	0.42

جدول 7. متوسط نتائج الاختبارات الحسية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

الفترة الزمنية (يوم)	اللون	القوام	الطعم	القبول العام
مباشرة	9	8	8	9
30 يوم	7	7	8	8
60 يوم	7	6	7	7
90 يوم	6	6	7	7

جدول 8. نتائج الاختبارات الميكروبية لعينات الشاهد من البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

الأحياء الدقيقة CFU					الفترة الزمنية (يوم)	المكررات
<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i> O157:7H	<i>Staph.</i> <i>aureus</i>	كوليفورم	التعداد الكلي		
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 6.5$	$10^5 \times 5$	مباشرة	1
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1.2$	$10^5 \times 3.5$	30 يوم	1
Null	Null	Null	$10^2 \times 1$	$10^4 \times 1$	60 يوم	1
Null	Null	Null	10×4.5	$10^3 \times 4.5$	90 يوم	1
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 7.8$	$10^5 \times 4.5$	مباشرة	2
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1.6$	$10^5 \times 3.9$	30 يوم	2
Null	Null	Null	$10^2 \times 1.5$	$10^4 \times 8.9$	60 يوم	2
Null	Null	Null	10×5	$10^3 \times 4.5$	90 يوم	2
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 6.5$	$10^5 \times 4.8$	مباشرة	3
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1.2$	$10^5 \times 3.2$	30 يوم	3
Null	Null	Null	$10^2 \times 1$	$10^4 \times 8$	60 يوم	3
Null	Null	Null	10×4.5	$10^3 \times 4$	90 يوم	3

الملحق 4

جدول 9. متوسط نتائج المحتوى الكيميائي لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

الصفات الكيميائية						الخطأ	الفترة الزمنية
الملح	TBARS	الرماد	الرطوبة	الدهن	البروتين		
2.10	0.33	1.80	52.33	28.27	21.47	1	مباشرة
2.10	0.33	1.85	52.13	24.67	21.40	2	
2.10	0.32	1.83	51.81	24.90	21.36	3	
2.10	0.31	1.81	56.98	23.33	21.29	4	
2.07	0.31	1.77	56.60	20.00	21.26	5	
2.07	0.30	1.79	56.40	20.43	21.31	6	
2.07	0.29	1.76	61.78	18.40	21.25	7	
2.03	0.29	1.76	62.30	15.10	21.20	8	
2.03	0.28	1.76	62.32	15.10	21.15	9	
2.03	0.27	1.73	66.28	13.67	21.17	10	
2.03	0.25	1.76	65.95	10.87	21.16	11	
2.03	0.22	1.72	65.77	11.00	21.24	12	
2.00	0.33	1.73	53.19	26.67	21.32	1	بعد 30 يوماً
2.00	0.33	1.77	52.46	24.37	21.25	2	
2.00	0.32	1.69	52.12	24.87	21.31	3	
2.00	0.31	1.73	57.92	23.00	21.17	4	
2.00	0.32	1.76	57.18	19.60	20.96	5	
2.03	0.31	1.75	56.59	19.73	21.11	6	
2.00	0.31	1.74	58.97	17.67	21.08	7	
2.00	0.31	1.74	62.43	14.83	20.80	8	
2.03	0.29	1.72	62.50	14.93	20.91	9	
2.03	0.27	1.75	66.99	13.00	21.07	10	

2.00	0.25	1.76	66.53	10.27	21.08	11	
2.00	0.23	1.72	65.95	10.83	21.14	12	
2.03	0.34	1.76	54.98	25.20	20.43	1	بعد 60 يوماً
2.00	0.33	1.73	52.65	24.07	20.88	2	
2.00	0.32	1.73	51.79	24.77	21.05	3	
2.03	0.32	1.76	55.57	20.73	20.78	4	
2.00	0.32	1.75	56.53	19.00	20.67	5	
2.03	0.31	1.75	56.37	19.67	20.97	6	
2.00	0.33	1.74	62.89	16.00	20.47	7	
2.00	0.33	1.75	62.07	14.50	20.40	8	
1.97	0.32	1.73	62.17	14.97	20.66	9	
2.03	0.28	1.73	64.83	11.00	20.87	10	
2.00	0.26	1.74	66.00	10.23	20.89	11	
2.00	0.21	1.73	65.63	10.80	21.00	12	
2.00	0.34	1.70	56.66	22.67	20.07	1	بعد 90 يوماً
2.00	0.33	1.77	52.10	23.97	20.21	2	
2.00	0.32	1.75	51.57	24.17	20.41	3	
1.95	0.33	1.74	55.93	17.83	20.12	4	
2.00	0.32	1.75	56.07	18.67	20.20	5	
2.05	0.31	1.80	56.27	19.70	20.23	6	
2.05	0.35	1.78	61.57	13.60	20.00	7	
2.05	0.34	1.81	61.13	14.00	20.10	8	
2.05	0.32	1.80	61.33	14.93	20.27	9	
2.10	0.33	1.80	52.33	28.27	21.47	10	
2.10	0.33	1.85	52.13	24.67	21.40	11	
2.10	0.32	1.83	51.81	24.90	21.36	12	

جدول 10. متوسط نتائج تقدير الملوثات المعدنية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

الملوثات المعدنية		الفترة الزمنية	الملوثات المعدنية		الخطأ	الفترة الزمنية
الزئبق	الرصاص		الزئبق	الرصاص		
0.43	0.02	بعد 30 يوماً	0.44	0.02	1	مباشرة
0.43	0.02		0.45	0.02	2	
0.43	0.02		0.45	0.02	3	
0.43	0.02		0.45	0.02	4	
0.43	0.02		0.45	0.02	5	
0.44	0.02		0.44	0.02	6	
0.43	0.02		0.44	0.02	7	
0.43	0.02		0.44	0.02	8	
0.43	0.02		0.43	0.02	9	
0.43	0.02		0.45	0.02	10	
0.43	0.02		0.45	0.02	11	
0.44	0.02		0.45	0.02	12	
0.42	0.02	بعد 90 يوماً	0.42	0.02	1	بعد 60 يوماً
0.42	0.02		0.42	0.02	2	
0.42	0.02		0.42	0.02	3	
0.42	0.02		0.42	0.02	4	
0.42	0.02		0.42	0.02	5	
0.42	0.02		0.43	0.02	6	
0.42	0.02		0.42	0.02	7	
0.42	0.02		0.42	0.02	8	
0.42	0.02		0.42	0.02	9	
0.44	0.02		0.42	0.02	10	
0.45	0.02		0.42	0.02	11	
0.45	0.02		0.42	0.02	12	

جدول 11. متوسط نتائج الاختبارات الفيزيائية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

الفترة الزمنية	الخلطة	الفاقد بالطبخ %	التقلص (تغير القطر) %	الفترة الزمنية	الفاقد بالطبخ %	التقلص (تغير القطر) %
مباشرة	1	22.50	23.20	بعد 30 يوماً	22.23	23.50
	2	21.53	22.13		21.30	22.10
	3	20.93	20.77		20.93	21.20
	4	22.47	22.40		22.53	22.10
	5	21.60	21.10		21.53	21.20
	6	20.57	20.12		20.03	20.80
	7	22.37	22.20		20.87	22.60
	8	21.73	20.10		20.37	22.40
	9	21.33	19.20		19.97	22.60
	10	22.13	21.50		20.90	22.70
	11	20.87	19.40		20.53	20.50
	12	19.43	18.60		20.13	19.80
بعد 60 يوماً	1	22.17	23.50	بعد 90 يوماً	22.47	24.20
	2	21.87	23.20		21.53	20.83
	3	20.93	19.40		20.93	19.20
	4	22.50	22.50		22.13	22.30
	5	22.27	21.10		21.43	20.20
	6	21.27	19.50		21.13	18.10
	7	21.63	22.80		21.77	22.80
	8	21.10	22.75		21.33	22.50
	9	20.50	22.10		21.07	21.20
	10	20.47	20.10		22.50	23.20
	11	20.27	18.90		21.53	22.13
	12	19.87	18.10		20.93	20.77

جدول 12. متوسط نتائج الاختبارات الحسية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

القبول العام	الطعم	القوام	اللون	الخلطة	الفترة الزمنية
7.00	7.00	7.00	7.33	1	مباشرة
7.00	7.00	7.00	7.67	2	
6.33	6.33	6.33	6.33	3	
7.67	7.00	7.00	7.67	4	
7.00	7.33	7.33	7.33	5	
7.00	6.67	7.00	7.67	6	
7.33	7.33	7.33	7.33	7	
8.00	7.67	8.00	7.67	8	
7.67	7.33	7.33	7.67	9	
6.67	6.67	6.67	7.33	10	
6.67	6.67	6.67	7.00	11	
7.33	7.33	7.33	7.67	12	
7.33	7.00	7.00	7.33	1	بعد 30 يوماً
7.00	6.67	7.00	7.00	2	
7.33	7.33	7.33	7.33	3	
7.67	7.33	7.33	7.33	4	
6.67	6.67	6.67	7.00	5	
6.67	6.67	6.67	6.67	6	
6.67	7.00	7.33	7.00	7	
7.67	7.33	7.33	7.67	8	
6.67	6.33	6.33	7.00	9	
7.00	6.67	6.67	6.67	10	
7.00	7.00	7.00	7.17	11	

7.33	7.33	7.33	7.33	12	بعد 60 يوماً
6.67	6.67	6.33	6.33	1	
7.17	7.17	7.17	7.33	2	
7.33	7.33	7.33	7.33	3	
6.33	6.33	6.33	7.00	4	
7.00	6.67	6.67	7.00	5	
7.00	7.00	7.00	7.00	6	
7.33	7.00	7.33	7.33	7	
6.33	6.33	6.33	6.67	8	
6.33	6.33	6.17	6.33	9	
7.00	7.00	7.00	7.00	10	
7.00	7.00	6.67	7.00	11	
6.00	6.00	6.00	6.33	12	بعد 90 يوماً
7.00	7.00	6.50	7.00	1	
6.50	6.50	6.00	6.50	2	
6.00	6.00	6.00	6.50	3	
7.00	7.00	7.00	7.00	4	
7.00	7.00	7.00	6.50	5	
7.50	7.00	7.00	7.50	6	
7.50	7.00	7.50	7.50	7	
7.00	7.00	6.50	7.00	8	
7.50	8.00	7.50	7.00	9	
7.50	7.00	7.50	7.50	10	
7.00	7.00	7.00	7.33	11	
7.00	7.00	7.00	7.67	12	

جدول 13. متوسط نتائج الاختبارات الميكروبية لعينات خلطات البرغر البقري خلال فترات الحفظ المجمد.

الأحياء الدقيقة CFU					الخلطة	الفترة الزمنية
<i>Salmonella</i>	<i>E.coli</i> O157:7H	<i>Staph. aureus</i>	كوليفورم	التعداد الكلي		
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 8.3$	$10^5 \times 4.6$	1	مباشرة
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 8$	$10^5 \times 4.3$	2	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 8$	$10^5 \times 4.2$	3	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 4.8$	$10^5 \times 2.9$	4	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 4.2$	$10^5 \times 2.6$	5	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 4$	$10^5 \times 2.3$	6	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 2$	$10^5 \times 1.9$	7	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 2$	$10^5 \times 1.6$	8	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1.9$	$10^5 \times 1.6$	9	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1$	$10^4 \times 9.3$	10	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1$	$10^4 \times 9.3$	11	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1$	$10^4 \times 9$	12	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 2.8$	$10^5 \times 2.7$	1	بعد 30 يوماً
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 2.4$	$10^5 \times 2.4$	2	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 2.2$	$10^5 \times 2.4$	3	
Null	Null	$<10^3$	$10^2 \times 1$	$10^5 \times 1$	4	
Null	Null	$<10^3$	10×9.3	$10^4 \times 7.6$	5	
Null	Null	$<10^3$	10×9.3	$10^4 \times 7.5$	6	
Null	Null	$<10^3$	10×1.8	$10^4 \times 2.3$	7	
Null	Null	$<10^3$	10×1.8	$10^4 \times 2.1$	8	
Null	Null	$<10^3$	10×1.8	$10^4 \times 2$	9	
Null	Null	$<10^3$	Null	$10^4 \times 1.1$	10	
Null	Null	$<10^3$	Null	$10^4 \times 1.1$	11	
Null	Null	$<10^3$	Null	$10^4 \times 1.1$	12	

Null	Null	Null	$10^2 \times 5.3$	$10^4 \times 7.5$	1	بعد 60 يوماً
Null	Null	Null	10×4	$10^4 \times 6.8$	2	
Null	Null	Null	$10^2 \times 4.7$	$10^4 \times 6.5$	3	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 4.7$	4	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 4.3$	5	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 4$	6	
Null	Null	Null	Null	$10^3 \times 9$	7	
Null	Null	Null	Null	$10^3 \times 8.5$	8	
Null	Null	Null	Null	$10^3 \times 8.3$	9	
Null	Null	Null	Null	$10^3 \times 3.2$	10	
Null	Null	Null	Null	$10^3 \times 2.8$	11	
Null	Null	Null	Null	$10^3 \times 2.8$	12	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 3.4$	1	بعد 90 يوماً
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 3.1$	2	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 3$	3	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 1.7$	4	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 1.7$	5	
Null	Null	Null	Null	$10^4 \times 1.6$	6	
Null	Null	Null	Null	Null	7	
Null	Null	Null	Null	Null	8	
Null	Null	Null	Null	Null	9	
Null	Null	Null	Null	Null	10	
Null	Null	Null	Null	Null	11	
Null	Null	Null	Null	Null	12	

جدول 14. الاشتراطات الجرثومية وفق المواصفة القياسية السورية 2179 للعام 2007

الحدود/ للمل أو الغرام				الجراثيم	نوع المنتج
ص M	م m	ق c	ع n		
10 ⁷	10 ⁶	2	5	التعداد العام للجراثيم	الهمبرغر غير المطهي
10 ³	10 ²	2	5	الكوليفورم	
10 ³	10 ²	2	5	المكورات العنقودية الذهبية موجبة التخثر	
-	خالي	صفر	5	الاشريكية القولونية الممرضة 0157:H	
-	خالي/25 غ	صفر	5	سالمونيلا	
10 ³	10 ²	2	5	خمائر وفطور	خليط التوابل والبهارات
10 ³	10 ²	2	5	الكوليفورم	
10 ³	10 ²	1	5	المكورات العنقودية الذهبية موجبة التخثر	
-	خالي/25 غ	صفر	5	سالمونيلا	
ع n: عدد وحدات العينة التي يجب تحليلها.					
م m: مستوى الحد الجرثومي المطلوب تحقيقه في المنتج.					
ق c: الحد الأقصى لعدد وحدات العينة المسموح فيه بأن يعطي رقم أكبر من قيمة م ولكنها تساوي أو أقل من قيمة ص.					
ص M: أقصى قيمة للحد الجرثومي يجب ألا يزيد عنها في أي وحدة من ع.					

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Agriculture
Department of Food Science



**Producing Xanthan Gum from locally isolated
Xanthomonas Bacteria and Applied in Some Food
Products**

**Thesis Submitted for the PhD. degree in Agricultural
Science (Food Science)**

Prepared by

Eng. Lina Abdul Aziz

Supervision

Supervisor

Prof. Sabah Yaziji

Co-Supervisor

Prof. Abdulhakim Azizieh

Department of Food Science - Faculty of Agriculture - Damascus University

2019-2020