



الجمهورية العربية السورية  
جامعة دمشق  
كلية الهندسة الزراعية  
قسم علوم الأغذية

## تحديد الظروف المثلى لإنتاج السكريات المتعددة من الطحلب الأخضر *Cladophora sp*

أطروحة مقدمة لنيل درجة الدكتوراه في الهندسة الزراعية

تخصص علوم الأغذية

إعداد المهندس

مهند خالد جاسم

بإشراف

الأستاذ الدكتور

عدنان علي نظام - مشرفاً مشاركاً

أستاذ في قسم الحياة النباتية

جامعة دمشق - كلية العلوم

الأستاذ الدكتور

عبد الوهاب مرعي - مشرفاً رئيساً

أستاذ في قسم علوم الأغذية

جامعة دمشق - كلية الزراعة

دمشق 2023 م / 1445 هـ

نشهد نحن أعضاء لجنة الحكم أننا اطلعنا على رسالة الدكتوراه المحكّمة بتاريخ 26 / 7 / 2023 والتي  
تحمل عنوان :

تحديد الظروف المثلى لإنتاج السكريات المتعددة من الطحلب الأخضر *Cladophora* sp.

الأستاذ الدكتور عبد الوهاب مرعي

الأستاذ الدكتور صباح يازجي

الأستاذ الدكتور أنطون طيفور

الأستاذ المساعد الدكتور جهاد سمعان

الأستاذ المساعد الدكتور سيراؤوس محمد

## شهادة

نشهد نحن الموقعون أدناه بأن العمل المنجز في هذه الأطروحة والمُعنون:

تحديد الظروف المثلى لإنتاج السكريات المتعددة من الطحلب الأخضر *Cladophora sp*

هو نتيجة بحث علمي قام به المرشح مهند خالد جاسم تحت إشرافنا.

الأستاذ الدكتور

عدنان على نظام

الأستاذ الدكتور

عبد الوهاب مرعي

## تصريح

أُصرح بأن هذا البحث:

(تحديد الظروف المثلى لإنتاج السكريات المتعددة من الطحلب الأخضر *Cladophora sp*)

لم يُسبق أن قبل للحصول على أي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشح

مهند خالد جاسم

## DECLARATION

This is hereby declared that this work "**Determination of the Optimal Conditions of Polysaccharides Production from Green Algae *Cladophora sp***"

Has not been used previously or Submitted now for any other Degree.

**Candidate**

**Mohanad Khaled Jasem**

## شكر وإهداء

بداية، أحمد الله تعالى على توفيقه لي في مسيرتي العلمية، وأسأله ان يوفقني وينفعني بما نلته من العلم فيما يخدم وطني سورية.

أتقدم بفائق الشكر والعرفان بالجميل إلى أستاذي الدكتور **عبد الوهاب مرعي** وإلى استاذي الدكتور **عدنان علي نظام** على اشرافهم على اطروحتي، فقد بذلوا مابوسعهم، ولم ييخلوا في عطائهم، وخصوني بوقتهم ومنحوني اهتمامهم..... جزاكم الله عني أحسن الجزاء.

كما أشكر **لجنة الحكم** الموقرة : الأستاذة الدكتور **صباح اليازجي**، الأستاذ الدكتور **انطون طيفور**، الدكتور **جهاد سمعان** و الدكتور **سيراؤوس محمد** وذلك لتفضلهم بتحكيم اطروحتي.

ولا يسعني إلا أن أعبر عن شكري للأساتذة في قسم علوم الاغذية والأساتذة في كلية العلوم من قسمي علم الحياة النباتية والكيمياء، كما أتقدم بالشكر لإدارة كلية الزراعة وكلية العلوم في جامعة دمشق. واشكر الكادر الإداري والمهندسون في المؤسسة العام للحبوب.

كل الشكر والتقدير إلى عائلتي الثانية في قسم علم الحياة النباتية وقسم علوم الاغذية: **بسام طريف**، **خالد رمضان**، **مصطفى اسماعيل**، **هذيل جماس** و **عبيدة حجلي** وإلى اخواتي **د. مها دكاك**، **د. اسيل الأزعط**، **د. عبير الصالح**، **الباحثة عبير ديبوب**، **الباحثة آسيا خطاب**، **الباحثة ناديا خضر**، **الباحثة فردوس كورجك**، **الباحثة لى شبيب**، **الباحثة نورالجوجو**، **الباحثة كنانة عمران**.

**والشكر موصول إلى الأساتذة:** **أ.د صباح اليازجي**، **أ.د عبد الحكيم عزيزية**، **أ.د محمد محمد**، **أ.د عبدالرحمن سفرجلاني**، **أ.د أحمد فلاح**، **أ.د سليم زيد**، **الأخ والدكتور سمير أبو اصبع**، **الدكتور سيراؤوس محمد** و **الدكتور محمد بشير عرنوس**، **الدكتور جهاد سمعان** و **الدكتور روعة طلي**. **الدكتور شذى الشعال** و **الأستاذة هيفاء** و **الأستاذة رزان** في المخبر المركزي بكلية العلوم.

أهدي هذا العمل إلى قذوتي و **الدي خالد جاسم**، وإلى ملاذي أمي **ابتسام اليوسف**، وإلى أخوتي **مصعب** و **محمد** و **اخواتي حنان وهبة**، وإلى عطاء الله لنا **خالد** و **ابتسام** و **أية** و **ملاك** وإلى أسماء تدور في خاطري وليس لدي مكان سوى القلب ليجوئها.

## المحتويات

| الصفحة | الموضوع                                                       |
|--------|---------------------------------------------------------------|
| 1      | ملخص الدراسة                                                  |
| 2      | المقدمة                                                       |
| 5      | مشكلة البحث                                                   |
| 5      | تساؤلات البحث                                                 |
| 5      | فرضيات البحث                                                  |
| 6      | مسلمات البحث                                                  |
| 6      | أهداف البحث                                                   |
| 6      | أهمية البحث                                                   |
| 6      | مبررات البحث                                                  |
| 7      | محدوديات البحث                                                |
| 7      | خطوات العمل                                                   |
| 8      | <b>الفصل الأول : الدراسة المرجعية</b>                         |
| 9      | 1-1- التعريف بالطحالب ( التصنيف والتكاثر)                     |
| 11     | 1-2- جنس <i>Cladophora</i> sp                                 |
| 12     | 1-3- طرائق إكثار الطحالب                                      |
| 13     | 1-4- العوامل المؤثرة في نمو الطحالب وتركيبها الكيميائي        |
| 19     | 1-5- عديدات السكاريد                                          |
| 21     | 1-6- طرائق استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من الطحالب          |
| 23     | 1-7- خواص عديدات السكاريد الكبريتية                           |
| 23     | 1-7-1- الخواص المضادة للبكتريا لعديد السكاريد الكبريتي        |
| 25     | 1-7-2- الخواص المضادة للفيروسات لعديد السكاريد الكبريتي       |
| 25     | 1-7-3- الخواص المضادة للتأكسد لعديد السكاريد الكبريتي         |
| 26     | 1-8- تطبيقات استعمال عديد السكاريد الكبريتي في المجال الغذائي |
| 26     | 1-9- القمح وصناعة البسكويت                                    |
| 29     | <b>الفصل الثاني: المواد والطرائق</b>                          |
| 30     | مخطط العمل                                                    |
| 31     | 1-2-المواد والأدوات والأجهزة المستعملة                        |
| 34     | 2-2- طرائق البحث                                              |
| 34     | أولاً. الدراسة الحقلية(ضمن النهر)                             |
| 34     | 1-جمع العينات                                                 |

|    |                                                                                        |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------|
| 34 | 2- الدراسة المورفولوجية، العزل والتنقية                                                |
| 35 | 3- القياسات البيئية                                                                    |
| 35 | 4- إجراء الكشف الشاردي للمياه وقياس pH                                                 |
| 35 | 5- التحري عن تغير التركيب الكيميائي للطحالب النامية ضمن الأنهار خلال فصل النمو         |
| 38 | 6- تحديد المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية للطحالب النامية ضمن الأنهار               |
| 38 | ثانياً. إكثار الطحالب في المختبر                                                       |
| 38 | 1- أوساط النمو المستعملة                                                               |
| 40 | 2- تقدير معدل النمو                                                                    |
| 40 | 3- التحري عن تغير التركيب الكيميائي للطحالب النامية ضمن أوساط النمو المختلفة           |
| 40 | ثالثاً. إكثار الطحالب ضمن الأحواض المفتوحة                                             |
| 42 | 3- 1- القياسات البيئية                                                                 |
| 42 | 3- 2- تقدير معدل النمو                                                                 |
| 42 | 3- 3- تقدير المحتوى من الكربوهيدرات                                                    |
| 42 | رابعاً. استخلاص عديد السكاريد                                                          |
| 42 | 4- 1- أمثلة استخلاص عديد السكاريد من طحلب <i>Cladophora</i> بتقنية الأمواج فوق الصوتية |
| 43 | 4- 2- أمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي باستعمال منهجية سطح الاستجابة               |
| 43 | 4- 3- التحاليل الكيميائية لعدد السكاريد الكبريتي                                       |
| 43 | 4- 4- تنقية عديد السكاريد الكبريتي                                                     |
| 44 | 4- 5- تحديد المجاميع الفعالة في القطفات بالأشعة تحت الحمراء القريبة                    |
| 44 | 4- 6- تحديد المكونات الكيميائية للقطفات وخواصها المضادة للتأكسد                        |
| 44 | 4- 7- تحديد السكريات البسيطة                                                           |
| 45 | خامساً. الخواص الفيزيائية لعدد السكاريد                                                |
| 45 | 5- 1- قياس اللزوجة النسبية                                                             |
| 45 | 5- 2- تحديد قرينة الانكسار (قياس الكثافة النوعية للسوائل)                              |
| 45 | 5- 3- تحديد نقطة الانصهار                                                              |
| 45 | 5- 4- تحديد الدوران البصري النوعي (القطبية)                                            |
| 46 | سادساً. الإختبارات الميكروبيولوجية                                                     |
| 46 | 6- 1- التحري عن وجود السموم (Toxins)                                                   |
| 47 | 6- 2- تحديد خواص عديدات السكاريد الكبريتية المضادة للبكتريا                            |
| 47 | سابعاً. التحري عن تأثير الخواص الريولوجية للعجين نتيجة إضافة عديد السكاريد الكبريتي    |
| 47 | ثامناً. تحضير البسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي                                  |
| 48 | 8- 1- تصنيع البسكويت                                                                   |
| 48 | 8- 2- التحاليل الكيميائية والفيزيائية للبسكويت                                         |

|     |                                                                                                                                                  |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 48  | 8-3- التقييم الحسي للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي                                                                                       |
| 48  | 8-4- التحري عن الفاعلية المضادة للتأكسد للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي                                                                  |
| 49  | تاسعاً. التحليل الإحصائي                                                                                                                         |
| 50  | <b>الفصل الثالث: النتائج والمناقشة</b>                                                                                                           |
| 51  | 3-1- الوصف المورفولوجي                                                                                                                           |
| 51  | 3-2- نتائج الدراسة الحقلية (ضمن الأنهار)                                                                                                         |
| 51  | 3-2-1- التغيرات المناخية، التركيب الشاردي لمياه الأنهار خلال موسم الازدهار والإجهاد                                                              |
| 52  | 3-2-2- تأثير موسم الإجهاد الصيفي والإزدهار الخريفي في التركيب الكيميائي لطحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i>                     |
| 55  | 3-2-3- نتائج تحليل الكتلة الحيوية لطحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> بطيف الأشعة تحت الحمراء القريبة في فصلي الازدهار والإجهاد |
| 58  | 3-2-4- نتائج علاقة الارتباط بين العوامل المستقلة والتركيب الكيميائي لطحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i>                         |
| 62  | 3-3- نتائج إكثار طحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> مخبرياً                                                                     |
| 62  | 3-3-1- أطوار النمو لطحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> عند استزراعها في المختبر                                                 |
| 64  | 3-3-2- التركيب الكيميائي لطحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> النامية ضمن أوساط الصرف الصحي، مستخلص التربة ووسط BBM              |
| 67  | 3-4- نتائج إكثار طحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> بتطبيق نظام الأحواض المفتوحة                                                |
| 67  | 3-4-1- القياسات البيئية                                                                                                                          |
| 68  | 3-4-2- تأثير نسبة النتروجين/فسفات وموسم النمو في معدل نمو طحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i>                                    |
| 69  | 3-4-3- تأثير نسبة النتروجين/فسفات وموسم النمو في المحتوى الكربوهيدراتي لطحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i>                      |
| 80  | 3-4-4- نتائج علاقة الارتباط بين العوامل المستقلة والمحتوى من الكربوهيدرات لطحالب النوعين <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i>                   |
| 83  | 3-5- نتائج أمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي بالأمواج فوق الصوتية (بالطرائق التجريبية)                                                        |
| 93  | 3-6- العوامل المؤثرة في استخلاص عديدات السكاريد باستعمال منهجية سطح الاستجابة (RSM)                                                              |
| 104 | 3-7- السكريات الكلية الذوابة في عديد السكاريد الخام                                                                                              |
| 112 | 3-8- المحتوى من السلفهديرل في عديد السكاريد الخام                                                                                                |
| 117 | 3-9- نتائج تنقية عديد السكاريد الخام                                                                                                             |

|     |                                                                             |
|-----|-----------------------------------------------------------------------------|
| 119 | 3- 10- مكونات عديدة السكاريد المنقاة                                        |
| 122 | 3- 11- الخواص المضادة للتأكسد لعديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة          |
| 124 | 3- 12- تفسير طيف الأشعة تحت الحمراء لعديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة    |
| 125 | 3- 13- السكريات البسيطة المكونة لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص            |
| 127 | 3- 14- الخواص الفيزيائية لعديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة               |
| 130 | 3- 14- 1- نتائج اللزوجة النسبية                                             |
| 130 | 3- 14- 2- نتائج قياس قرينة الانكسار                                         |
| 132 | 3- 14- 3- نتائج قياس درجة الانصهار                                          |
| 135 | 3- 14- 4- نتائج القطبية                                                     |
| 136 | 3- 15- نتائج الاختبارات الميكروبية                                          |
| 136 | 3- 15- 1- التحري عن وجود السموم (Toxins)                                    |
| 136 | 3- 15- 2- الخواص المضادة للبكتريا لعديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة      |
| 141 | 3- 16- تطبيق البسكوييت                                                      |
| 141 | 3- 16- 1- تأثير عديد السكاريد الكبريتي في الخواص الريولوجية                 |
| 143 | 3- 16- 2- تغير بعض القيم الغذائية للبسكوييت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي  |
| 144 | 3- 16- 3- التغيرات اللونية للبسكوييت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي         |
| 144 | 3- 16- 4- نتائج التقييم الحسي للبسكوييت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي      |
| 148 | 3- 16- 5- الفاعلية المضادة للتأكسد للبسكوييت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي |
| 150 | <b>الفصل الرابع: الخاتمة</b>                                                |
| 151 | الاستنتاجات                                                                 |
| 153 | التوصيات                                                                    |
| 154 | المراجع العربية                                                             |
| 156 | المراجع الإنكليزية                                                          |
| 187 | <b>ملخص الدراسة باللغة الإنكليزية</b>                                       |

## قائمة الجداول

| الجدول | العنوان                                                                                              | الصفحة |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| 1      | المواد الكيميائية المستعملة في البحث                                                                 | 31     |
| 2      | الأجهزة المستعملة في البحث                                                                           | 33     |
| 3      | الأدوات المستعملة في البحث                                                                           | 34     |
| 4      | التركيب الكيميائي لوسط BBM                                                                           | 39     |
| 5      | تصميم تجربة إكثار طحالب الكلاذوفورا بطريقة الأحواض المفتوحة                                          | 41     |
| 6      | القيم والعوامل التجريبية لتصميم بوكس - بنكن (BBD).                                                   | 43     |
| 7      | البيانات المناخية لمواقع الدراسة حيث جمعت طحالب الكلاذوفورا                                          | 52     |
| 8      | التركيب الشاردي للمياه في المواقع المدروسة حيث جمعت طحالب الكلاذوفورا                                | 52     |
| 9      | نتائج تغير القيمة الغذائية لطحالب الكلاذوفورا خلال فصلي الازدهار والإجهاد                            | 54     |
| 10     | المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>Cladophora crispata</i> النامي خلال فترة الصيف          | 57     |
| 11     | المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>Cladophora fracta</i> النامي خلال فترة الصيف            | 57     |
| 12     | المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>Cladophora crispata</i> النامي خلال فترة الخريف         | 58     |
| 13     | المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>Cladophora fracta</i> النامي خلال فترة الخريف           | 58     |
| 14     | أطوار النمو لطحالب النوعين <i>C. fracta</i> و <i>C. crispata</i> عند استزراعها في وسط الصرف الصحي    | 63     |
| 15     | أطوار النمو لطحالب النوعين <i>C. fracta</i> و <i>C. crispata</i> عند استزراعها في وسط BBM.           | 63     |
| 16     | أطوار النمو لطحالب النوعين <i>C. fracta</i> و <i>C. crispata</i> عند استزراعها في وسط مستخلص التربة. | 64     |
| 17     | التركيب الكيميائي الغذائي لطحالب <i>Cladophora crispata</i> في أوساط النمو المختلفة.                 | 66     |
| 18     | التركيب الكيميائي الغذائي لطحالب <i>Cladophora fracta</i> في أوساط النمو المختلفة.                   | 67     |
| 19     | القياسات البيئية الخاصة بتجربة الأحواض خلال فترة الدراسة                                             | 68     |
| 20     | تأثير الظروف البيئية والتغذية في المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>C. crispata</i>   | 77     |

|    |                                                                                                                                                                                                                 |     |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 21 | تأثير الظروف البيئية والتغذية في المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>C. frakta</i>                                                                                                                | 79  |
| 22 | معامل الانحدار الخطي البسيط للمحتوى الكربوهيدراتي على أساس العامل المستقل نسبة النتروجين: الفوسفات، درجة الحرارة، مدة الإضاءة وشدها                                                                             | 81  |
| 23 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الماء كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. crispata</i>                                                                                                                         | 84  |
| 24 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الماء كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. frakta</i>                                                                                                                           | 85  |
| 25 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس المتانول 70% كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. crispata</i>                                                                                                                  | 86  |
| 26 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس المتانول 70% كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. frakta</i>                                                                                                                    | 87  |
| 27 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الايتانول 70% كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. crispata</i>                                                                                                                 | 88  |
| 28 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الايتانول 70% كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. frakta</i>                                                                                                                   | 89  |
| 29 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الأسيتون 70% كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. crispata</i>                                                                                                                  | 90  |
| 30 | المردود من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الأسيتون 70% كمذيب استخلاص لطحلب <i>C. frakta</i>                                                                                                                    | 91  |
| 31 | تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> باستعمال الماء كمذيب استخلاص.         | 96  |
| 32 | تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> باستعمال المتانول 70% كمذيب استخلاص.  | 98  |
| 33 | تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> باستعمال الايتانول 70% كمذيب استخلاص. | 100 |
| 34 | تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i> باستعمال الأسيتون 70% كمذيب استخلاص.  | 102 |
| 35 | الظروف التجريبية والمتوقعة بحسب منهجية سطح الاستجابة لأمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب <i>C. frakta</i> و <i>C. crispata</i>                                                                       | 103 |

|     |                                                                                                                                                              |    |
|-----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 105 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة الماء من طحلب <i>Cladophora crispata</i>                                | 36 |
| 106 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة الماء من طحلب <i>Cladophora fracta</i>                                  | 37 |
| 107 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة المتانول 70% من طحلب <i>Cladophora crispata</i>                         | 38 |
| 108 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة المتانول 70% من طحلب <i>Cladophora fracta</i>                           | 39 |
| 109 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة الايتانول 70% من طحلب <i>Cladophora crispata</i>                        | 40 |
| 110 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة الايتانول 70% من طحلب <i>Cladophora fracta</i>                          | 41 |
| 111 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة الأسيون 70% من طحلب <i>Cladophora crispata</i>                          | 42 |
| 112 | النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي<br>المستخلص بوساطة الأسيون 70% من طحلب <i>Cladophora fracta</i>                            | 43 |
| 119 | أرقام الأجزاء السكرية المكونة للقطفاة الناتجة عن تنقية عديدالسكاريد<br>الكبريتي المستخلص بالمذيبات المختلفة من طحلب <i>C. crispata</i> و<br><i>C. fracta</i> | 44 |
| 119 | التركيب الكيميائي لعديد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة<br>المستخلص بوساطة الماء من طحلب <i>C. crispata</i> على أساس 10%<br>رطوبة.                  | 45 |
| 120 | التركيب الكيميائي لعديد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة<br>المستخلص بوساطة الماء من طحلب <i>C. fracta</i> على أساس 10%<br>رطوبة.                    | 46 |
| 120 | التركيب الكيميائي لعديد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة<br>المستخلص بوساطة المتانول 70% من طحلب <i>C. crispata</i> على أساس<br>10% رطوبة.           | 47 |
| 120 | التركيب الكيميائي لعديد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة<br>المستخلص بوساطة المتانول 70% من طحلب <i>C. fracta</i> على أساس<br>10% رطوبة.             | 48 |
| 121 | التركيب الكيميائي لعديد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة<br>المستخلص بوساطة الايتانول 70% من طحلب <i>C. crispata</i> على أساس<br>10% رطوبة.          | 49 |

|     |                                                                                                                                                                                                               |    |
|-----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 121 | التركيب الكيميائي لعدد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة المستخلص بوساطة الايتانول 70% من طحلب <i>C. fracta</i> على أساس 10% رطوبة.                                                                    | 50 |
| 121 | التركيب الكيميائي لعدد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة المستخلص بوساطة الأسيتون 70% من طحلب <i>C. crispata</i> على أساس 10% رطوبة.                                                                   | 51 |
| 122 | التركيب الكيميائي لعدد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة بوساطة الأسيتون 70% من طحلب <i>C. fracta</i> على أساس 10% رطوبة.                                                                              | 52 |
| 124 | معامل الارتباط والتحديد بين العامل المستقل نسبة السلفهدريل، الحموض السكرية Uranic acide والعامل التابع اختبار DPPH* ، ABTS <sup>++</sup> لكل من نوعي الطحالب <i>C. fracta</i> و <i>C. crispata</i> كل على حدة | 53 |
| 133 | نتائج قياس قرينة الانكسار لعديدات السكاريد المستخلصة من طحلب <i>C. crispata</i>                                                                                                                               | 54 |
| 134 | نتائج قياس قرينة الانكسار لعديدات السكاريد المستخلصة من طحلب <i>C. fracta</i>                                                                                                                                 | 55 |
| 135 | نتائج قياس درجة الانصهار لعديدات السكاريد المستخلصة من طحلب <i>C. fracta</i> و <i>C. crispata</i>                                                                                                             | 56 |
| 136 | نتائج قياس القطبية لعديدات السكاريد المستخلصة من طحلب <i>C. fracta</i> و <i>C. crispata</i>                                                                                                                   | 57 |
| 140 | التركيز المثبط الأدنى (اختبار MIC) للقطفات المنقاة من هلام الترشيح لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب الماء العذب <i>Cladophora .crispata</i>                                                            | 58 |
| 140 | التركيز المثبط الأدنى (اختبار MIC) للقطفات المنقاة من هلام الترشيح لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب <i>Cladophora fracta</i> .                                                                         | 59 |
| 141 | مؤشرات الفارينوغراف للعجين المدعم بنسب مختلفة من عدد السكاريد الكبريتي (SPs) المنقى                                                                                                                           | 60 |
| 142 | مؤشرات الاكستنسوغراف للعجين المدعم بنسب مختلفة من عدد السكاريد الكبريتي (SPs) المنقى                                                                                                                          | 61 |
| 143 | المؤشرات الغذائية للبسكويت المدعم بعدد السكاريد الكبريتي                                                                                                                                                      | 62 |
| 144 | التغيرات اللونية للبسكويت المدعم بعدد السكاريد الكبريتي                                                                                                                                                       | 63 |

## قائمة الأشكال

| الصفحة | العنوان                                                                                                                                                      | الشكل |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| 13     | إكثار الطحالب الخضراء ضمن ظروف المختبر باستعمال أوساط نمو.                                                                                                   | 1     |
| 21     | السكريات الثنائية المكونة لأنواع الأولفان                                                                                                                    | 2     |
| 36     | منحنى معايرة الألبومين المصل البقري.                                                                                                                         | 3     |
| 36     | منحنى المعايرة لسكر الغلوكوز.                                                                                                                                | 4     |
| 38     | المنحني القياسي لحمض الغاليك.                                                                                                                                | 5     |
| 41     | طريقة إكثار طحالب الكلادوفورا بطريقة الأحواض المفتوحة.                                                                                                       | 6     |
| 51     | مظهر طحلب الكلادوفورا تحت المجهر: (أ) كرسباتا ؛ (ب) فركتا.                                                                                                   | 7     |
| 56     | تحديد المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>Cladophora crispata</i> النامي في أثناء الصيف والخريف.                                                    | 8     |
| 56     | تحديد المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب <i>Cladophora fracta</i> النامي في أثناء الصيف والخريف.                                                      | 9     |
| 76     | معدل النمو وزمن التضاعف لطحالب الكلادوفورا خلال مواسم النمو وتحت تأثير معاملات الإكثار المختلفة.                                                             | 10    |
| 113    | النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعدد السكريد الخام المستخلص من طحلب <i>C. fracta</i> بوساطة الماء.                                                     | 28    |
| 114    | النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعدد السكريد الخام المستخلص من طحلب <i>C. crispata</i> بوساطة المتانول 70%.                                            | 29    |
| 114    | النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعدد السكريد الخام المستخلص من طحلب <i>C. fracta</i> بوساطة المتانول 70%.                                              | 30    |
| 115    | النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعدد السكريد الخام المستخلص من طحلب <i>C. crispata</i> بوساطة الايتانول 70%.                                           | 31    |
| 115    | النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعدد السكريد الخام المستخلص من طحلب <i>C. fracta</i> بوساطة الايتانول 70%.                                             | 32    |
| 116    | النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعدد السكريد الخام المستخلص من طحلب <i>C. crispata</i> بوساطة الأسيتون 70%.                                            | 33    |
| 116    | النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعدد السكريد الخام المستخلص من طحلب <i>C. fracta</i> بوساطة الأسيتون 70%.                                              | 34    |
| 117    | القطافات الناتجة عن تنقية عدد السكريد الكبريتي الخام المستخلص بوساطة المذيبات المختلفة من طحلب <i>C. crispata</i> باستعمال هلامة الترشيح Sephadex gel G-100. | 35    |

|     |                                                                                                                                                                   |    |
|-----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 118 | القطرات الناتجة عن تنقية عديد السكاريد الكبريتي الخام المستخلص بوساطة المذيبات المختلفة من طحلب <i>C. fracta</i> باستعمال هلام الترشيح Sephadex gel G-100.        | 36 |
| 118 | الفاعلية المضادة للتأكسد لعدد السكاريد الكبريتي الخام والمنقى المستخلص بطروف مختلفة لطحلب <i>C. crispata</i> بناءً على اختبار $DPPH^*$ و $ABTS^{+*}$ .            | 37 |
| 123 | الفاعلية المضادة للتأكسد لعدد السكاريد الكبريتي الخام والمنقى المستخلص بطروف مختلفة وذلك لطحلب <i>C. fracta</i> بناءً على اختبار $DPPH^*$ و $ABTS^{+*}$ .         | 38 |
| 123 | طيف الأشعة تحت الحمراء لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي <i>C. crispata</i> و <i>C. fracta</i> بوساطة الماء.                                                | 39 |
| 125 | طيف الأشعة تحت الحمراء لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي <i>C. crispata</i> و <i>C. fracta</i> بوساطة المتانول 70%.                                         | 40 |
| 126 | طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي <i>C. crispata</i> و <i>C. fracta</i> بوساطة الايتانول 70%.                                | 41 |
| 126 | طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي <i>C. crispata</i> و <i>C. fracta</i> بوساطة الأسيتون 70%.                                 | 42 |
| 127 | نتائج فصل عديد السكاريد على ألواح السيليكا، الكزايروز (Xy)الجلكتوز (Gal)، الرافنوز (Rh)، الرايبوز (Ri) لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب <i>C. crispata</i> | 43 |
| 128 | نتائج فصل عديد السكاريد على ألواح السيليكا، الكزايروز (Xy)الجلكتوز (Gal)، الرافنوز (Rh)، الأرابينوز (AR) لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب <i>C. fracta</i> | 44 |
| 128 | التحليل الكروماتوغرافي بتقنية HPLC لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب <i>C. crispata</i>                                                                     | 45 |
| 129 | التحليل الكروماتوغرافي بتقنية HPLC لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب <i>C. fracta</i>                                                                       | 46 |
| 131 | اللزوجة النسبية لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي <i>C. crispata</i> و <i>C. fracta</i> على تركيز 5% و 10%.                                                 | 47 |
| 138 | النشاط المضاد للبكتريا (على أساس قياس قطر التثبيط) للقطرات المنقاة من هلام الترشيح لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب <i>C. crispata</i>                     | 48 |
| 139 | النشاط المضاد للبكتريا (على أساس قياس قطر التثبيط) للقطرات المنقاة من هلام الترشيح لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب <i>C. fracta</i>                       | 49 |

|     |                                                                                                                                          |    |
|-----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 143 | تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي في مؤشرات الاكستتسوغراف: أ: دقيق من دون إضافة ،ب: دقيق مضاف إليه عديد السكاريد الكبريتي               | 50 |
| 145 | البسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي بنسب مختلفة                                                                                      | 51 |
| 147 | التقييم الحسي للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي بنسب مختلفة                                                                        | 52 |
| 149 | الفاعلية المضادة للتأكسد للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي المنقى: قيم التركيز الذي يؤمن كنس الجذور الحرة بنسبة 50 % ( $IC_{50}$ ) | 53 |

### قائمة الاختصارات

|                                                                        |                    |
|------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| American association of cereal chemists                                | AACC               |
| Association Official Analytical Chemists                               | AOAC               |
| 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonicacid) diammonium salt | ABTS <sup>++</sup> |
| Adjusted Sum of Squares                                                | Adj MS             |
| Adjusted Mean Square                                                   | Adj SS             |
| Bacillus anthracis                                                     | B. anthracis       |
| Bold's Basal Medium                                                    | BBM                |
| <i>Cladophora crispata</i>                                             | C.crispata         |
| <i>Cladophora fracta</i>                                               | C.fracta           |
| 1,2-diphenylpicrylhydrazyl                                             | DPPH <sup>•</sup>  |
| Enterobacter aerogenes                                                 | E. aerogenes       |
| Fourier transforms infrared spectroscopy                               | FT-IR              |
| Food and drug administration                                           | FDA                |
| High Performance Liquid Chromatography                                 | HPLC               |
| Minimum Inhibition Concentration                                       | MIC                |
| Methyl thiazol tetrazolium                                             | MTT                |
| Pseudomonas aeruginosa                                                 | P. aeruginosa      |
| Relative Front                                                         | R <sub>f</sub>     |
| Thin-Layer Chromatography                                              | TLC                |
| Scanning Electron Microscopy                                           | SEM                |
| Sulfated Polysaccharides                                               | SPs                |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                                           | S. aureus          |



## الملخص

في هذا البحث تم عزل نوعين من طحالب الكلادوفورا *Cladophora* و *Cladophora crispata* و *fracta*. وتحديد القيمة الغذائية للنوعين المدروسين خلال فترتي الإجهاد والازدهار. وإكثارهما في المختبر باستعمال أوساط نمو مختلفة. وكذلك إكثارهما بطريقة الأحواض المفتوحة خلال مواسم النمو. وأمكن استخلاص عديدات السكاريد الكبريتية باستعمال الأمواج فوق الصوتية بوساطة المذيبات المختلفة، وباستعمال ثلاثة عوامل متغيرة هي: نسبة المذيب/مسحوق طحلب جاف 20:1، 30:1، 40:1 مل/غ، ودرجة حرارة استخلاص 40، 60، 80 م°، وزمن استخلاص 30، 75، 120 دقيقة. بعد ذلك أجري الكشف الكمي والنوعي له، وتنقية عديدات السكاريد (التي أعطت أعلى مردود) باستعمال هلامة الترشيح، والتحري عن فاعليتها المضادة للتأكسد والمضادة للبكتيريا. تم اختيار عديد السكاريد المستخلص بوساطة الأسيتون 70% من طحلب *C.fracta* ودرس تأثيره في الخواص الريولوجية للدقيق، وفي الخواص المضادة للتأكسد للبسكويت. عُرضت الطحالب للإجهاد خلال فصل الصيف وهذا أدى إلى ارتفاع قيم المحتوى من الكربوهيدرات. كما أثبت أن وسط BBM قام بالمحافظة على المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الطحالب. كان الحصول على أعلى محتوى كربوهيدراتي ضمن طحلب *C.crispata* (75.23%) و *C.fracta* (74.49%) خلال فترة الإجهاد الصيفي عند استعمال النسبة: وحدة فسفات إلى ثلاث وحدات نتروجين (3N:1P) في حال المزارع المنشطة عند إكثار الطحالب بطريقة الأحواض المفتوحة. أعطى الأسيتون 70% أعلى مردود من عديد السكاريد الكبريتي (12.2 - 13 %) باستعمال الظروف (30:1 مل/غ، 40 م°، 120 د.). ووجد أن ارتفاع وانخفاض المحتوى الكربوهيدراتي ترافق مع المردود، وأن محتوى السلفهديرل ترافق مع المردود عند استعمال درجات حرارة الاستخلاص المنخفضة. ووجد أن عديدات السكاريد هي من النوع غير المتجانس بناءً على الكشف باستعمال الأشعة تحت الحمراء. وأعطت تنقية عديدات السكاريد نوعين من الأجزاء المفصولة  $F_1$  و  $F_2$ . أثبت أن لنسبة السلفهديرل والحموض السكرية Uranic acide الدور الأكبر المسؤول عن الخواص المضادة للتأكسد لعديد السكاريد. وأبدت البكتريا إيجابية الغرام حساسية أكثر تجاه عديدات السكاريد الكبريتية مقارنة بسلبية الغرام. وأدت إضافة عديد السكاريد الكبريتي المنقى إلى زيادة مرونة العجين. إذ وجدت أعلى قيمة للمرونة 160 مم عند نسبة الإضافة 1.5 % للجزء المفصول  $F_2$ . كما أدت إضافة الجزء المفصول  $F_2$  إلى زيادة الفاعلية المضادة للتأكسد للبسكويت طول فترة تخزينه، ترافقت هذه الزيادة بارتفاع نسبة عديد السكاريد الكبريتي، إذ بلغت قيمة  $IC_{50}$  0.16 غ/غ لاختبار DPPH<sup>•</sup> و 0.01 غ/غ لاختبار  $ABTS^{+•}$ ، في المعاملة التي استعمل معها  $F_2$  بتركيز 1.5%.

## الكلمات المفتاحية:

طحلب الكلادوفورا، الإجهاد والازدهار، الإكثار، عديد السكاريد الكبريتي، الخواص المضادة للتأكسد، مضاد بكتيري، الخواص الريولوجية، البسكويت.

## المقدمة Introduction

تُعدّ الطحالب الخضراء من المنتجات الرئيسية في النظام البيئي المائي، وتضم أنواعاً كثيرة، بعضها كبيرة macroalgae وبعضها الآخر مجهري microalgae، ويوجد طحلب الكلادوفورا *Cladophora* في المياه العذبة والمالحة، ويحتوي على اليخضور a, b والبيتا كاروتين والزانثوفيل. تستزرع الطحالب في نظام البرك المفتوحة وفي المفاعلات الحيوية الضوئية وباستعمال مياه الصرف الصحي بهدف إنتاج الكتلة الحيوية. وصفت مستخلصات طحلب الكلادوفورا بأنها ذات فاعلية مضادة للتأكسد ومضادة للبكتريا والفطريات والفيروسات، كما درست بيولوجيا الطحالب الخضراء ومدى مراكمتها للسكريات في العديد من الأبحاث المحلية والعربية، هذا وتُعدّ عديدات السكاريد من أهم المنتجات المصنعة من الطحالب، وهي من النوع غير المتجانس، وبالتالي تختلف خواصها وتركيبها من جنس لآخر، ولعديدات السكاريد ذات المصدر الطحلي خواصاً مضادة للفيروسات، الفطريات وللبكتريا، ولها خواص مضادة للتأكسد إذ أثبتت مقدرتها على كنس الجذور الحرة، كما استُعملت في تطبيقات الصناعات الغذائية. تُستخرج عديدات السكاريد بطرائق عدة توصف بأنها صديقة للبيئة كالاستخلاص باستعمال أمواج الميكروويف (الموجات الصغرى أو الموجات الميكروية)، والاستخلاص بالأنزيمات، والاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية. وبالتجريب فقط تفوقت طريقة استخلاص عديد السكاريد باستعمال الأمواج فوق صوتية على طريقة الاستخلاص باستعمال الحمام المائي وذلك من حيث المردود، ولتقنية الأمواج فوق الصوتية نموذجان: المسبر Ultrasonic probe وحمام الأمواج فوق الصوتية Ultrasonic bath، الفرق بينهما في تردد الأمواج، فالأولى تجرى باستعمال 20 كيلوهرتز والثانية تتطلب 40-50 كيلوهرتز، كما يجب أن يكون المسبر ضمن العينة، أما في حالة حمام الأمواج فوق الصوتية فتوضع العينة ضمن الحمام، وفي كلا النموذجان يمكن التحكم بزمان الاستخلاص ودرجة حرارة الاستخلاص، وفي هذا السياق انجزت العديد من الأبحاث التي قامت بتحديد الظروف المثلى لاستخلاص عديدات السكاريد من الطحالب، وتُعدّ منهجية سطح الاستجابة تقنية إحصائية فعالة لأتملة العمليات المعقدة، والميزة الرئيسية لها هو تخفيض عدد المعاملات التجريبية المحتاجة لتقييم العوامل المؤثرة المتعددة ومدى التفاعل بينها عن طريق تحديد المعاملات المثلى التي تحقق أفضل النتائج؛ لذا فهي توفر الجهد والوقت مقارنة ببقية الطرائق، وقد استُعمل هذا النموذج على نطاق واسع لأتملة استخلاص عديدات السكاريد، ويُعدّ تصميم التجربة المسمى بوكس - بنكن "نسبة إلى الباحثين Box و Behnken في جامعة ويسكونسن وشركة سيّن مايد الأمريكيتين عام 1960" أحد أنماط هذه الطريقة وهو تصميم من الدرجة الثانية للعوامل المستقلة، وفيه تكون المعاملات كافة في مركز فضاء العينة، وهو قابل للتدوير (تغيير ترتيب العوامل)، ويتطلب ثلاثة مستويات لكل عامل.

يزرع القمح في سورية ويعتبر من أهم المحاصيل الزراعية نظراً إلى استخراج الدقيق منه ولاحقاً الدخول في صناعة المخبوزات، ويكون صنف القمح الطري *Triticum aestivum* مناسباً لصناعة البسكويت، ويكون صنف القمح القاسي *Triticum durum* مناسباً لصناعة المعكرونة.

يُعد الغلوتين البروتين الأساسي في دقيق القمح الذي يتكون من جزأين الغليادين وبلمر الغلوتينين، و الغلوتين هو العنصر الرئيس في صناعة المخبوزات، ومسؤول عن خاصية المطاطية؛ لذا فإن أي إضافة أو استبدال لدقيق القمح تؤثر في خواص العجين، والعامل الحاسم في مدى ملائمة أنواع القمح لصناعات المخبوزات المختلفة هو طبيعة الشبكة الغلوتينية، ففي صناعة الخبز يجب أن تقوم الشبكة الغلوتينية باحتجاز الغاز لكي يكون حجم رغيف الخبز مناسباً، ويتحقق ذلك عندما يتمتع بروتين الدقيق بالقوة والمطاطية لكن المرونة تكون مطلوبة للدقيق الداخل في صناعة البسكويت، فالريولوجيا تمثل كيفية تأثر المواد (تشوه المواد) خلال خضوعها لقوة ما وبعدها، وتستعمل للتنبؤ بجودة المنتج النهائي.

أنجزت العديد من الأبحاث التي من شأنها التعديل في الخواص الريولوجية للغلوتين مثل عوامل الأكسدة وعوامل الإرجاع، إذ تكسر عوامل الإرجاع الروابط ثنائية الكبريت بين جزيئات البروتين وضمن الجزيئة الواحدة، أي ينخفض الوزن الجزيئي للبروتين وتزداد مرونته، ويُعد تشكل الشبكة الغلوتينية وتوزيع الماء ضروريين للتحكم في سلوك العجين، والتي تحدد جودة المنتجات النهائية، ويُعد جهازا الفارينوغراف والإكستنسوغراف من الأجهزة الشائعة لدراسة الخواص الريولوجية للعجين.

### الفصل الأول: الدراسة المرجعية

هدف هذا القسم إلى تقديم دراسات سابقة عن موضوع البحث، وتضمن هذا القسم:

- تمهيداً عاماً عن مجال البحث.
- دراسة مرجعية لنتائج سابقة عن مجال البحث.

### الفصل الثاني: مواد البحث وطرائقه

يتضمن هذا الفصل استعراضاً للمواد الكيميائية والأدوات والأجهزة المستعملة في البحث والتي اختيرت بالشكل الذي يخدم أهداف البحث على أكمل وجه، تلاه عرض تفصيلي للطرائق المتبعة في البحث والتي بدأت بجمع عينات الطحالب من مواقع مختلفة من الأنهار في القطر العربي السوري والقيام بالتنشخيص المورفولوجي لأنواع الطحالب ومراقبة تغير معدل النمو للطحالب والذي يؤثر في تركيبها الكيميائي الغذائي، تلاه العمل على تنقية العزلات وإكثارها بطريقتين مخبرياً وبوساطة الإكثار بطريقة الأحواض المفتوحة ومراقبة تغير المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية للطحالب. كما جرى العمل مخبرياً على أمثلة استخلاص عديد السكاريد، وتنقيته وتحديد مكوناته بطرائق الكروماتوغرافيا وتشخيص المجاميع الفعالة فيه باستعمال الأشعة تحت الحمراء، وإجراء بعض الاختبارات الفيزيائية له. ومن ثم أجريت اختبارات الكشف عن فاعلية عديدات السكاريد المستخلصة تجاه البكتريا والتحري عن فاعليتها المضادة للتأكسد وجرى العمل على تطبيق استعمال عديد السكاريد الكبريتي

في مجال صناعة البسكويت ومراقبة التغيرات الحاصلة على الخواص الريولوجية للعجين، و تغير خواصه المضادة للتأكسد للبسكويت.

### الفصل الثالث: النتائج والمناقشة

يضم هذا الفصل استعراضاً لنتائج العمل المخبري بعد جمع العينات، والعمل على مناقشة النتائج وتفسيرها ومقارنتها مع الدراسات السابقة وذلك لتقييمها واكتشاف الجديد فيها. كما تم ربط نتائج أمثلة إكثار الطحالب مع المؤشرات البيئية ونسب النترات إلى الفوسفات، وكذلك ربط نسب المحتوى من السلفهيدريل والحموض السكرية Uranic acide مع النشاط المضاد للتأكسد.

بدايةً استعرضت نتائج التوصيف المورفولوجي الخاص بتصنيف الطحالب ومناقشتها، تلاها عرض نتائج تأثير مرحلة الازدهار والإجهاد على التركيب الكيميائي للطحالب، أعقبه إدراج نتائج إكثار الطحالب مخبرياً وأمثلة إكثار الطحالب بنظام الأحواض المفتوحة.

تناول القسم الثاني من هذا الفصل عرض نتائج أمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي بظروف الاستخلاص المختلفة، ومن ثم عرض نتائج تنقية هذا البلمر وتقدير مكوناتها وتشخيص المجاميع الفعالة فيه وتحديد الوحدات السكرية المكونة له. كما تم تحديد بعض خواصه الفيزيائية.

في حين أشار القسم الثالث من هذا الفصل إلى التحري عن الفاعلية المضادة للتأكسد والفاعلية المضادة للبكتريا، وعرض نتائج تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي على الخواص الريولوجية للعجين وعلى الصفات المضادة للتأكسد للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي وصفاته الحسية.

### الفصل الرابع: الخاتمة

في نهاية هذه الرسالة تم وضع بعض الإستنتاجات والتي تبين أن طحالب الكلادوفورا (*C. crispata*) و (*C. fracta*) منتشرة بشكل واسع في البيئة السورية وبشكل خاص طحلب *C. fracta* إذ أمكن العثور عليه في مجرى نهر الأعوج، الكبير الشمالي، بعض الينابيع في الغوطة الشرقية، وادي النضارى. وهي مصدر مهم للمركبات الغذائية مثل البروتينات، الفيتامينات، الحموض الدسمة، المعادن والسكريات، ولا تتجاوز مدة الحصول على الكتلة الحيوية للطحلب أكثر من أسبوعين سواء تم ذلك بطرائق الإكثار مخبرياً وباستعمال أوساط زرعية المختلفة، أو باستعمال الأحواض المفتوحة، وأثبت في هذا البحث عن كفاءة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي باستعمال الأمواج فوق الصوتية، وإن كان باستعمال مؤشرات مختلفة (ظروف استخلاص مختلفة).

كما أمكن في هذا البحث تسليط الضوء على بنية هذا البلمر والتحري عن صفاته المضادة للتأكسد وللبيكتريا. وتم إثبات نجاح إدخال هذا البلمر في صناعة البسكويت.

كما خلصت هذه الرسالة إلى جملة من المقترحات والتوصيات.

### الفصل الخامس: المراجع

تضمن هذا الفصل سرداً لكامل المراجع العربية والإنكليزية مرتبةً بحسب التسلسل الأبجدي.

## مشكلة البحث The problem

عدم وجود دراسة محلية تناولت تعريف الأنواع الأكثر انتشاراً من طحلب كلادوفورا، وتحديد مكوناته الغذائية وتقديرها، والتحري عن فاعليتها ذات الفاعلية الحيوية وبشكل خاص عديد السكاريد الكبريتي، إذ تتجه المحاور البحثية إلى تأمين مصادر جديدة من المركبات الفعالة ذات تكاليف الاستخلاص المنخفضة.

## تساؤلات البحث Questions

1. هل لوسط نمو الطحالب وفترة نموها تأثير في تركيبها الكيميائي.
2. هل لطرق إكثار الطحالب تأثير في محتواها من الكربوهيدرات.
3. هل تؤثر ظروف الاستخلاص (نوع مذيب الاستخلاص ونسبته للطحلب، زمن الاستخلاص، درجة حرارة الاستخلاص) في المردود من عديد السكاريد الكبريتي، وهل تؤثر تلك الظروف في نسبة مجموعة السلفهدريل والحموض السكرية Uronic acide بين السكريات.
4. هل لعديد السكاريد الكبريتي خواص مضادة للبكتريا.
5. هل لعديد السكاريد الكبريتي خواص مضادة للتأكسد.
6. هل تؤدي إضافة عديد السكاريد الكبريتي إلى دقيق القمح لصناعة البسكويت إلى تحسن في خواصه المضادة للتأكسد.

## فرضيات البحث Hypotheses

1. يفترض البحث تباين الأنواع من طحالب الكلادوفورا في البيئة السورية.
2. يفترض البحث وجود تأثير لفصل النمو في التركيب الغذائي لطحالب الكلادوفورا.
3. يفترض البحث تأثير طريقة إكثار طحالب الكلادوفورا (مخبرياً أو بطريقة الأحواض المفتوحة) في المحتوى من الكربوهيدرات.
4. يفترض البحث وجود فروق ذات دلالة إحصائية في كفاءة المذيبات على استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحلب لوجود تباين في قطبية مذيبات الاستخلاص المستعملة، كما يفترض أن تؤثر ظروف الاستخلاص (نسبة المذيب إلى الطحلب، زمن الاستخلاص، درجة حرارة الاستخلاص) على المردود من عديد السكاريد الكبريتي، وهل تؤثر هذه المؤشرات على نسبة مجموعة السلفهدريل والحموض السكرية Uronic acide ضمن عديدات السكاريد المستخلصة.
5. يفترض البحث وجود فروق ذات دلالة إحصائية في مقدرة عديد السكاريد الكبريتي المستخلصة من طحالب الكلادوفورا على تثبيط نمو البكتريا إيجابية وسلبية الغرام.
6. يفترض البحث وجود فروق ذات دلالة إحصائية في كفاءة تثبيط الجذور الحرة باستعمال عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحالب الكلادوفورا، لوجود تباين في نسبة مجموعة السلفهدريل والحموض السكرية Uronic acide بين السكريات المستخلصة بالمذيبات المختلفة.

## مسلمات البحث Search axioms

يُعد عديد السكاريد الكبريتي من أهم مكونات طحالب المياه العذبة الخضراء، ويُعد استخلاص هذا السكر سهلاً للغاية، وله خواص مضادة للبكتيريا، ومضادة للتأكسد.

## أهداف البحث Objective

1. التحري عن تأثير فترة الإجهاد الصيفي والازدهار الخريفي في التركيب الكيميائي لطحلب الكلادوفورا.
2. استزراع الطحلب الأخضر *Cladophora sp* في المختبر.
3. أمثلة ظروف نمو الطحلب الأخضر *Cladophora sp* في الحوض المفتوح.
4. أمثلة ظروف استخلاص عديدات السكاريد بطريقة الأمواج فوق الصوتية.
5. تقييم المردود من عديدات السكاريد المستخلصة في ظروف مختلفة، وتأثير مؤشرات الاستخلاص في المحتوى من الكربوهيدرات والمحتوى من السلفهيدريل.
6. تنقية عديدات السكاريد الخام، والتحديد الكمي والنوعي لمكوناتها، وتعيين أنواع السكريات المستخلصة بتقنية الكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC، والسائلة عالية الأداء HPLC.
7. التحري عن التأثير المضاد للتأكسد والمضاد للبكتيريا لعديدات السكاريد المتحصل عليها.
8. التحري عن تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي في الخواص الريولوجية للعجين.
9. استعمال السكريات المتحصل عليها في صناعة البسكويت.

## أهمية البحث Research importance

نظراً إلى المحتوى العالي للطحالب الخضراء من عديدات السكاريد والتطبيقات المهمة لها في المجالات المتنوعة، والانتشار الواسع لطحلب *Cladophora sp* في البيئة السورية، وإمكان تنميتها والحصول على المواد بكلفة منخفضة نسبياً، وعدم وجود دراسات محلية حول إنتاج عديدات السكاريد من الطحلب الأخضر تأتي أهمية البحث في التعرف إلى الطحلب الأخضر *Cladophora sp* وتقييم المحتوى من السكريات المتعددة فيه، وتوجه رغبات المصنعين والمستهلكين نحو استعمال المواد السكرية الطبيعية، ذات الفاعلية الحيوية.

## مبررات البحث Research justifications

تنتشر الطحالب الخضراء في المياه العذبة الخضراء على نحو واسع في مياه الأنهار، لاسيما طحالب الكلادوفورا، وكان لابد من تمييز أنواع هذا الطحلب، كما يلفت الانتشار الواسع لهذه الطحالب إلى ضرورة التحري عن تركيبها الكيميائي وفي المقام الأول عديد السكاريد الكبريتي. لأنه لم يسبق وجود دراسة محلية سابقة قامت بإكثار هذا الطحلب واستخلاص هذا السكر وتحديد تركيبه والتحري عن خواصه ذات الفاعلية الحيوية، أو حتى تطبيق إدخاله ضمن نطاق الصناعات الغذائية.

## محدوديات البحث Research Limitations

إجراء مسح لبعض المواقع النهرية في سورية وتحديد نوع طحلب الكلادوفورا، وتنقيتها وإكثارها في المختبر وضمن الأحواض المفتوحة. تبع ذلك استخلاص عديد السكاريد الكبريتي، ثم تنقيته وتحديد مكوناته والتحري عن فاعليته ذات الخواص المضادة للتأكسد والمضادة للبكتريا، ودراسة إمكان تطبيقه في مجال صناعة البسكويت.

أجري هذا البحث في عام 2019 م ولغاية 2022 م، ضمن مختبرات قسم علم الحياة النباتية، مخبر الكيمياء المركزي، مخبر الكيمياء الفيزيائية في كلية العلوم بجامعة دمشق، ومخابر قسم علوم الأغذية، ومخبر قسم التربة في كلية الزراعة بجامعة دمشق، وكذلك الأمر في المخبر المركزي لبحوث الحبوب والدقيق في سبينة (المؤسسة العامة للحبوب)، دمشق، سورية.

### خطوات العمل:

- جمع عينات الطحالب من مواقع مختلفة من المياه في سورية، والقيام بالتشخيص المورفولوجي، ومراقبة تأثير موسم الإجهاد الصيفي والازدهار الخريفي في تغير التركيب الغذائي لطحالب الكلادوفورا.
- إكثار الطحالب بطريقتين مخبرياً، والإكثار بطريقة الأحواض المفتوحة ومراقبة تغير المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية لطحالب.
- أمثلة استخلاص عديد السكاريد باستعمال المؤشرات التالية: نوع المذيب، نسبة المذيب إلى الطحلب الجاف، درجة حرارة الاستخلاص، زمن الاستخلاص، مع دراسة تأثير هذه المؤشرات في المحتوى الكربوهيدراتي والمحتوى من السلفهيدريل لهذا البلمر السكري.
- تنقية عديد السكاريد الخام وتحديد مكوناته بالطرائق الكروماتوغرافية (TLC و HPLC) وتشخيص المجاميع الفعالة فيه باستعمال الأشعة تحت الحمراء
- إجراء اختبارات الكشف عن فاعلية عديدات السكاريد المستخلصة تجاه البكتريا والتحري عن فاعليتها المضادة للتأكسد.
- دراسة تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي في الخواص الريولوجية للعجين.
- تطبيق إضافة عديد السكاريد الكبريتي في مجال صناعة البسكويت ومراقبة التغيرات الحاصلة عليه، وإجراء تقييم حسي للبسكويت، وتغير خواصه المضادة للتأكسد للبسكويت.

## أولاً- الدراسة المرجعية

## Literature Review

## 1-1- التعريف بالطحالب ( التصنيف والتكاثر )

تمتلك الموارد المائية في سورية أهمية استراتيجية بالغة وذلك لموقع القطر العربي السوري ضمن المناطق شبه الجافة، وتقسم الأنهار الموجودة في سورية إلى مجموعتين: المجموعة الأولى هي الأنهار الدولية المشتركة بين سورية ودول الجوار الجغرافي مثل نهر الفرات، دجلة الكبير الجنوبي، واليرموك، أما المجموعة الثانية وهي الأنهار الداخلية مثل الخابور، البليخ، السن، بردى، ويندرج ضمن هذه المجموعة الأنهار غير دائمة الجريان وهي الأنهار التي تجري فيها المياه مدة لاتزيد عن أشهر.

كما يوجد في سورية مجموعة من البحيرات الطبيعية مثل بحيرة قطينة و زرزر ( هندي والربيعي، 2013، 186). يُعد نهر بردى من أشهر الأنهار الموجودة في سورية، وينبع نهر الأعوج من جبل الشيخ في بلدة عرنة، طوله 70 كم ويروي مساحة قدرها 745 هكتاراً.

يُعد نهر الكبير الشمالي أحد أهم الأنهار في المنطقة الساحلية ويقع حوضه الساكب في الجزء الشمالي الغربي من سورية، يبلغ طول النهر 96 كم في الأراضي السورية. أقيم سد 16 تشرين عام 1985 ويقع خلف سد بحيرة سد 16 تشرين. تقدر مساحة سطح البحيرة 11.2 كم<sup>2</sup>، السعة التخزينية العظمى 212 مليون م<sup>3</sup>، مع وجود طبقة حصوية راسبة في القاع. يتصف حجم الماء ضمن البحيرة بالتغير وذلك بحسب الفصل من السنة، إذ تكون سعته العظمى في فترة الربيع (نيسان وأيار) والأقل سعة في أيلول وتشرين الأول بحسب متطلبات الري. يتبع المناخ السائد في سورية إلى المناخ المتوسطي، إذ يكون الطقس معتدلاً ورطباً شتاءً ومعتدلاً إلى حار ورطب صيفاً ولا تتجاوز درجة الحرارة 35 م°. وتتميز البيئة المائية في سورية بوفرة الطحالب الموجودة فيها وتنوعها (عكو وآخرون، 2017، 95؛ كورجك ونظام، 2018، 21؛ محمد، 2020، 71).

تمثل الطحالب مجموعة من الأحياء ذاتية التغذية، ذات أشكال وأحجام وألوان مختلفة، تنمو في أوساط مائية، وتبدي كفاءة عالية في عملية التركيب الضوئي مقارنة بالنباتات الراقية، وتكون هذه الطحالب إما وحيدة الخلية وتسمى بالطحالب الدقيقة، أو عديدة الخلايا وتسمى بالطحالب الكبيرة (عكو وآخرون، 2017، 93).

تقسم الطحالب إلى 10 قسماً وفقاً للمظهر تحت المجهر، ومكونات الخلية (علي نظام، 2009، 97) الكارئة Charophyta، الصفراء المخضرة Xanthophyta، الحمراء Rhodophyta، المشطورات Bacillariophyta، السمراء Phaeophyta، المستخفية Cryptophyta، الذهبية Chrysophyta، اليوغولينية Euglenophyta، النارية Pyrrophyta، الخضراء Chlorophyta يصنف طحلب *Cladophora* من ضمن الأجناس التابعة لقسم الطحالب الخضراء Chlorophyta وصف Chlorophyceae (Graham and Wilcox, 2000,454).

القسم (Division) : Chlorophyta

الصف (Class) : Chlorophyceae

الرتبة (Order) : Cladophorales

العائلة (Family) : Cladophoraceae

الجنس (Genus) : *Cladophora*

ويوجد في البحار والمياه العذبة إذ تتراكم المواد المغذية والتنافس القليل (Zulkifly et al., 2013,1)، ونوضح أهم الأنواع التابعة للجنس *Cladophora*:

*C.Albida*, *C.flexuosa*, *C.rachingeri*, *C.capensis*, *C.sericea*, *C.laetevirens*, *C.rupestris*, *C.glomerata*, *C.vagabunda*, *C.dotyana*, *C.montagneana*, *C.gica*, (Xavier et al., 2015,125) *C.echinus*, *C.radiosa*, *C.sakaii*, *C.fracta*, *C.crispata*

كما استعملت الطرائق الحديثة مثل تقنية PCR من أجل تحديد درجة القرابة بين الأنواع التابعة لجنس الكلادوفورا (Leliaert et al., 2009, 157). ويتغير تصنيف الطحالب من وقت لآخر، إذ تضاف صفوف ورتب جديدة (Fang et al., 2017, 330).

تتكاثر الطحالب إعاشياً *Vegitatively*، ولاجنسياً *Asexually*، وجنسياً *Sexually*

### أولاً. التكاثر الإعاشي *Vegitative Reproduction*

ويتم بإحدى الطرائق الآتية:

1. بالانقسام البسيط للخلية: وهو شائع لدى الطحالب وحيدة الخلية، إذ ينقسم محتوى الخلية الأم إلى خليتين ثم تكبر هاتان الخليتان لتصبحا بحجم الخلية الأم.
2. بالتفتت (التجزؤ) *Fragmentation*: وهو شائع في الطحالب الخيطية إذ ينقسم الخيط عرضياً ويتابع كل جزء انقساماته الخلوية مثل *Cladophora* و *Spirogyra*.
3. بوساطة براعم خاصة *Propagula*: إذ تتشكل هذه البراعم على فروع خاصة وتتفصل عن الطحلب الأم وتتابع تطورها لتعطي أفراداً جديدة.

### ثانياً. التكاثر اللاجنسي *Asexual Reproduction*

تتكاثر الطحالب لاجنسياً بتكوين أنماط مختلفة من الأبواغ *Spores* ومن أنماطها:

1. الأبواغ الساكنة *Aplanospores*: يتكوّن هذا النمط من الأبواغ في الظروف غير المناسبة كالجفاف وتكون غنية بالمدخرات الغذائية وذات جدر ثخينة مثل *Cladophora*.
2. الأبواغ الذاتية *Autospores*: وهي كالأبواغ الساكنة إنما فقدت القدرة الوراثية على تكوين السياط.
3. الأبواغ السابحة *Zoospores*: وتتكون في خلايا معينة في خيوط الطحلب، وقد تكون ثنائية السياط أو رباعية أو إكليلية أو عديدة السياط.
4. الأبواغ الأحادية *Monospores*: وهي أبواغ ساكنة تتكون لدى بعض الطحالب الحمراء مثل *Porphyra*.
5. الأبواغ السلسلية *Hormospores*: وهي مجموعة من الخلايا تتفصل من خيط الطحلب، وتنمو في الظروف الملائمة مكونة خيوط طحلبية جديدة.
6. أبواغ الأكينيت *Akinetes*: وهي أبواغ مقاومة ذات جدار ثخين وغنية بالمدخرات، تتكوّن عند كثير من الطحالب الخضراء مثل *Cladophora* و *Tribonema*.
7. المستعمرات البنات *Daughter colonies*: وتلاحظ في بعض الطحالب المتكتلة مثل *Volvox* إذ ينقسم بعض الخلايا في المستعمرة الأم عدداً من الانقسامات الخيطية، ويجري ذلك داخل جوف المستعمرة الأم، وتترتب الخلايا البنات الناتجة لتكوّن مستعمرات بنات تخرج بعد تمزق جدار الخلية الأم.

### ثالثاً. التكاثر الجنسي Sexual Reproduction

يحدث التكاثر الجنسي في الظروف غير الملائمة كنقص المغذيات أو بسبب الجفاف باتحاد المادة المورثية لخليتين جنسيتين أو عروسين ذكورية وأنثوية تتمايزان ضمن أكياس:

1. الإلقاح المتماثل Isogamy: وتكون العروس الأنثوية مماثلة للعروس الذكورية بالشكل والحجم مثل *Cladophora*.
2. الإلقاح المتباين Heterogamy: في هذه الحالة تكون العروس الذكورية مختلفة عن العروس الأنثوية بالشكل أو الحجم.
3. الإلقاح السابح Planogamy: يكون الإلقاح سابحاً إذا كانت الأعراس المتزاوجة سابحة.
4. الإلقاح الساكن Planogamy: يكون في هذه الحالة كلا العروسين ساكنتين كما في الطحالب الحمراء.
5. الإلقاح البيضي Oogamy: يكون هذا النمط عندما يجري بين عروس ذكورية متحركة وعروس أنثوية ساكنة.
6. الإلقاح الجوفي Cytogamy: يطلق عليه الإلقاح الكيسي وفيه لا تخرج الأعراس من أكياسها العروسية بل ينتقل محتوى الكيس العروسي الذكري إلى الكيس العروسي الأنثوي ويتحد معه كما في طحلب *Zygnema* (السراني وآخرون، 2000، 29-33).

### 2-1- جنس *Cladophora sp*

ينتمي جنس *Cladophora* إلى مجموعة الطحالب الخضراء الخيطية الكبيرة والتي تضم أكثر من 183 نوعاً، ويظهر هذا الجنس في جميع فصول السنة اعتماداً على توافر العناصر المغذية وبشكل خاص النيتروجين والفوسفات، ويتواجد في المياه العذبة والمالحة ، إلا انه هذا الجنس الأكثر تواجداً في النظم البيئية للمياه العذبة (Munir et al., 2019, 2)، ومن أشهر الانواع التي تتواجد في المياه العذبة *C. frakta*، *C. glomerata*، *C. rivularis*، *C. crispata* (Van den Hoek et al., 1995, 415; Athbi et al., 2012, 31). تعتمد الانظمة التقليدية لتصنيف الطحالب الكبيرة على عدة ميزات مثل الشكل وبيولوجيا الخلية وطريقة التكاثر (Higgins et al., 2008, 840).

وفيما يخص التصنيف المورفولوجي لجنس *Cladophora* فيعتمد على طريقة التفرع، ابعاد الخلية والنية العامة للطحلب الخلايا القاعدية، هذا ويكون التفرع في جميع انواع طحلب *Cladophora* إما تفرعاً كثيراً أو قليلاً، ومن حيث شكل تكون المستعمرة غالباً ما تأخذ شكلاً كثيفاً يشبه الحصيرة أو بشكل متكتل كروي (Van den Hoek et al., 1995, 415)، عادة مايكون سطح جدار الخلية في انواع طحلب أملسا وغير مغطى بالمخاط، أما جدار الخلية الداخلي مصنع من السليلوز وتأخذ الخلية شكلاً اسطوانياً (Lee et al., 2008, 173). هذا وتؤثر طبيعة جريان المياه على البنية المورفولوجية لطحلب *Cladophora* حيث وجد أن الطحالب النامية في المياه الراكدة كان لها فروع عديدة ووصل طولها إلى حوالي 20 سم، في حين أن تلك التي جمعت من المياه المتدفقة كان لها فروع قليلة ووصل طول التفرع إلى متر واحد، هذا يرتبط موسمية تواجد طحلب *Cladophora* ارتباطاً وثيقاً بوسط نموه مثل عمق المياه طبيعة الجريان وتواجد الفوسفات والنترات والأملاح الذائبة الكلية، كما أن لهذا النوع

يفضل درجة حرارة نمو تتراوح من 5- 23 م°. كما يكون هذا الجنس يكون متحملاً للملوحة المنخفضة ( Michalak and Messyas,2020,135)، والملفت للانتباه احتواء هذا الجنس على البرولين والذي يعد المسؤول عن التنظيم الحلولي ضمن الخلية الطحلبية حيث زاد المحتوى من البرولين في طحلب *C.fracta* من 4.58 الى 5.12%، كما يساهم البرولين في تخليق البروتينات وزيادة تكون صباغ اليخضور (Kaur and Asthir,2015,616).

يحتاج طحلب *Cladophora* إلى الضوء من أجل القيام بعملية التركيب الضوئي، ووجد أنه في ظروف المياه الضحلة كان نمو *C.glomerata* محدوداً (Higgins et al.,2008,849). ينمو طحلب *Cladophora* بشكل ملتصق على الصخور والأحجار المغمورة بالمياه أو قد يكون حراً غير ملتصق (Munir et al., 2019, 3) وجرى إكثاره في أحواض زجاجية سعة 10 لترت باستعمال المياه المرشحة أو باستعمال وسط WC medium ووسط WANG medium، كما أمكن التحكم في فترات الإضاءة والظلام 12 / 12 ساعة، درجة الحرارة 21 م° مع ضبط درجة pH، كما يتكاثر هذا الجنس بالطرق الخضرية والتكاثر الجنسي واللا جنسي (Michalak and Messyas,2020,137).

### 1-3- طرائق إكثار الطحالب

تُعد الطحالب مصدراً مهماً لتغذية الإنسان لاسيما في البلدان الآسيوية، ويجري استزراعها بغية الاستفادة من محتواها من المركبات ذات الفاعلية الحيوية، كما جرى العمل على استعمالها في تغذية الحيوانات (Promya et al., 2008,77). وتؤمن الطحالب نواتج الاستقلاب الأولية والثانوية، إذ تقوم بخلب العناصر المعدنية من وسط النمو ومن ثم يزداد تركيز نواتج الاستقلاب الثانوية ما يزيد فاعليتها المضادة للتأكسد (Nutaute et al., 2022)، يتم إكثار الطحالب الخضراء ضمن ظروف المختبر باستعمال أوساط نمو مختلفة مثل: وسط مستخلص التربة المعقم، وسط الصرف الصحي المعقم، وأوساط تركيبية مكونة من مجموعة من العناصر المعدنية والمركبات العضوية المختلفة مثل أوساط:

، V medium، WC medium، Chu 10 medium، BG-11 medium، Bold's Basal Medium يستعمل لهذا الغرض دوارق زجاجية مختلفة الأحجام شكل 1، مع مراعاة تأمين مصدر ضوئي، كما يمكن أن تزود بمضخات للهواء مع القيام بضبط درجة الحرارة وقيمة pH (Andersen,2005,18).



الشكل 1. إكثار الطحالب الخضراء ضمن ظروف المختبر باستعمال أوساط نمو

أدى استزراع طحلب *Chaetomorpha linum* في أوساط مختلفة التركيز من مياه الصرف الصحي إلى ارتفاع المحتوى البروتيني، اليخضور الكلي والفينولات الكلية. وقد تبين عند استزراع طحلب *Cladophora* في وسط يحتوي على 10% مياه صرف صحي و  $K_2HPO_4$  بنسب مختلفة (5-20 ملغ/لتر)، فإن الكتلة الحيوية للطحلب المتشكل كانت الأعلى في محتواها من البروتين في معاملات 20 ملغ/لتر  $K_2HPO_4$  مقارنة بالشاهد من دون إضافة  $K_2HPO_4$ ، ومع انخفاض تركيز الفوسفات في الوسط انخفض تكوين الكتلة الحيوية للطحلب (Khantrairong and Traichaiyaporn, 2011, 298). أخبر أن استزراع الطحالب بوسط مياه الصرف المعالجة أدى إلى ارتفاع في المحتوى البروتيني وصباغ اليخضور، ووجد أن التربة تحتوي الكوبالت الذي تستعمله الطحالب من أجل تركيب الفيتامين B12، فالفيتامين B12 يحفز إنتاج الدهن، كما عمل استعمال وسط BBM إلى الحصول على أعلى محتوى دهني لطحلب *Cladophora* (Teo et Safafar et al., 2016, 90). في حين عمل آخرون على إكثار طحالب الكلوريل باستعمال المخمر ووسط BBM من أجل تحديد تأثير بعض العوامل الفيزيوكيميائية على المحتوى الكربوهيدراتي في الطحلب (عكو وآخرون، 2017، 96). تزرع الطحالب في البرك المفتوحة والمغلقة، وباستعمال المخمرات، وفي المفاعلات الحيوية الضوئية، وفي مناطق انبعاثات غاز ثنائي أكسيد الكربون في المصانع من أجل إنتاج الكتلة الحيوية للطحالب (Ramaraj and Dussadee. 2015, 26)، ويجري إكثار طحالب الكلادوفورا في المختبر بنظام الدفعة الواحدة (Batch Culture)، باستعمال أوساط تنمية تحتوي على عناصر مغذية (مصدر نتروجيني، فسفات) لهذا الغرض، مع مراعاة ضبط درجة الحرارة، ومدة الإضاءة وشدها (Robinson and Hawkes, 1986, 440).

#### 1-4- العوامل المؤثرة في نمو الطحالب وتركيبها الكيميائي

تنمو الطحالب في مدى واسع من بيئات المياه العذبة والبحرية وعلى الشواطئ الصخرية، وعلى الثلوج والرمال وفي الينابيع الحارة والصحارى (Ramaraj and Dussadee, 2015, 22). إن نوعية المياه هي التي تحدد بقاء

ونمو الحيوانات والنباتات ضمن الماء (Akinyemi, 2012, 2274). ويُعد نوع الطحالب وكميتها دليلاً على نوعية الماء، إذ إن نمو الطحالب الخضراء بوفرة يُعد مؤشراً على النوعية الجيدة للماء (Ali et al., 2005, 27). تنتج الطحالب أثناء عملية التمثيل الضوئي الدهون والبروتينات والكربوهيدرات. ترتبط الكميات النسبية لهذه المنتجات الأيضية ارتباطاً وثيقاً بالبيئة بما في ذلك: مدة الإضاءة وشدها، مستويات ثاني أكسيد الكربون الرقم الهيدروجيني، درجة حرارة، وظروف المغذيات.

أمكن إدخال الطحالب في المجال التغذوي، إذ دخلت في تصنيع السلطات، الشوكولا، وتسمى وجبات الرز المدعمة بالطحالب في المطبخ الباباني Onigiri (Wells et al., 2017, 961) وذلك نظراً لما تحتوي من تركيب كيميائي عالي القيمة الغذائية. ويعتمد التركيب الكيميائي لطحلب الكلادوفورا إلى حد كبير على البيئة بوسط النمو (تركيز النتروجين، الفوسفات) والفصل من السنة (Parker and Maberly. 2000, 307-308; Michalak and Messyas. 2020, 163)، إذ ذكر Muztar وآخرون (1978, 833) أن تأثير نسبة النتروجين والفوسفات مهماً في معدل النمو والتركيب الكيميائي لطحلب الكلادوفورا، وأشار Celekli وآخرون (2016, 407-408) إلى تباين التركيب الكيميائي لطحالب النوعين *Cladophora glomerata* و *Cladophora crispata* الناميين في نهر الفرات خلال الفترات أيار وتشيرين الأول في تركيا. وقد تبين أن المحتوى البروتيني في طحلب *Cladophora crispata* بلغ 40.3% وأن الحموض الأمينية المكونة له باستعمال تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة تتكون من: الأسبارتيك والفينيل ألانين والتريبتوفان (Athbi et al., 2009, 14) وأخبر عن احتواء طحلب *Cladophora fracta* على الحموض الدسمة الآتية: حمض الأوليك، حمض البالمتيك، حمض اللينولينيك واللينوليك (Karan and Erenler, 2018, 1980)، وأمكن تحديد نشاط المركبات الدهنية المستخلصة منها أيضاً ضد مرض الأكياس العذرية مقارنة بالعقار التقليدي البندرازول (Khalaf et al., 2011, 77).

شكل المحتوى الكربوهيدراتي لطحلب *Cladophora crispata* المعزول من مياه أنهار العشار وأبي الخصيب والكرمة في محافظة البصرة 280 ميكروغرام/غرام، وعينت أحاديات السكاريد المكونة له باستعمال تقنية كروماتوغرافيا الغاز وتبين أنها تتكون من الرامينوز والغلاكروز والزيلوز والريبوز بتركيزات 10.5، 12.3، 11.49، 13.3% على الترتيب (Athbi et al., 2012, 34)، وتم التحري عن العوامل المؤثرة في المحتوى الكربوهيدراتي في العديد من الأبحاث (جاسم و أحمد 2010، 258؛ الأسدي و العوادي 2012، 31؛ عكو وآخرون 2017، 95). تعود القيمة المرتفعة للسكريات الكلية إلى محتوى المياه العالي من المعادن في وذلك لدراسة أجريت على طحالب *Cladophora glomerata*، *Cladophora crispate* النامية في نهر الفرات (Celekli et al., 2016, 407)، وبمتابعة البحث وجد أن ارتفاع تركيز أيون الكاديوم في وسط نمو طحلب *Cladophora glomerata* أدى إلى ارتفاع المحتوى الكربوهيدراتي (Celekli and Bulut, 2020, 228).

يعتمد المحتوى الدهني لطحالب الكلادوفورا على الملوحة، إذ إن نمو الطحلب في البيئات عالية الملوحة يجعل محتوى الدهن منخفضاً، إلا أن محتوى الفسفوليبيدات لم يتأثر كما في النوع *Cladophora vagabunda* (Elenkov et al., 1996, 44). ويُعد المحتوى المرتفع للرماد ضمن الكتلة الحيوية للطحالب هو دليل على محتواها المرتفع من العناصر المعدنية، وتحتوي طحالب *Cladophora* على الكالسيوم، والبوتاسيوم،

والمغنسيوم، والصوديوم والكلور (El-swaify, 2017,15) فهناك إمكان واسع للاستفادة من هذه العناصر المعدنية كمكملات غذائية (Rao et al., 2007,216). يُعد تقدير الرماد من المقاييس النوعية لتقدير الخواص الوظيفية للأغذية، وفي حال الطحالب يكون من أحد المؤشرات الهامة التي يعتمد عليها في تحديد الوجهة التصنيعية لهذه الكتلة الحيوية، ففي حال كان المحتوى منخفض فإنها توجه إلى إنتاج الوقود الحيوي، أما في حال كون هذا المحتوى مرتفع فيتم إدخال الطحالب ضمن صناعات الأعلاف أو كمكملات غذائية، وهناك مصطلح ash-free dry mass الذي يعد من مؤشرات نمو الكتلة الحيوية في الطحالب (Hofman et al.,2002,113; Sheng and Azevedo, 2005,501 Yin, 2011,1130; Ooi et al.,2012,11140) ونظراً إلى المحتوى العالي للطحالب الخضراء من اليخضور فقد سميت بالغذاء الزمردى Emerald food نسبةً إلى لون اليخضور، إذ تحتوي طحالب *Chlorella sp* على يخور كلي بنسبة 7% من الكتلة الحيوية وتحقق لها هذه الميزة معدل نمو مرتفع (Bewicke and Potter,2009,84; Ramaraj et al.,2015,4, Unpaprom et al.,2020, 7). ولليخور تأثير مضاد للطفرات ويؤدي دوراً مهماً في الوقاية من أمراض السرطان، كما يدخل في أغذية الحمية (Ferruzzi and Blakeslee,2007,2). تقوم الفينولات بمسك الشوارد المعدنية مثل الحديد والنحاس عن طريق ربطها وإزالة شحنتها، ومن ثم تصبح هذه العناصر جاهزة لبدء تفاعلات كنس الجذور الحرة، إضافة إلى مقدرتها على تثبيط أنزيمات الأكسدة وتتيح معرفة كمية المحتوى من الفينولات الكلية ضمن الكتلة الحيوية لطحلب الكلادوفورا من تكوين فكرة عن مقدرة الطحالب على إزالة الإيونات المعدنية من ضمن وسط نموه، بالإضافة إلى إمكان استعمال مستخلص نوعي الطحالب كمادة مضادة للأكسدة (Gzella et al.,2012,32).

ومن أهم العوامل التي تؤثر في نمو الطحالب وتركيبها الكيميائي

### 1- التنشيط الآلي الميكانيكي Stirring

تُعد عملية التحريك أو التنشيط الحركي أمراً ضرورياً لمنع ترسب الطحلب ولتحسين التبادل الغازي بين المزرعة والهواء، ولضمان توزيع المواد الغذائية، وتحدث عادة بطريقة يدوية أو بالتهوية Aerating (Fateme and Mohsen, 2016,133).

### 2- قيمة pH وسط النمو

تُعد درجة حموضة وسط النمو ذات تأثير جوهري في نمو الكتلة الحيوية للطحلب ومحتواها من المركبات، هذا وتفضل الطحالب النمو ضمن أوساط ذات قيمة pH بين 6 - 8، وتضبط هذه القيمة في وسط النمو أو المزرعة عن طريق إضافة حمض الفوسفوريك. إذ تتراكم الليبيدات في أوساط النمو القلوية في حين تتراكم الكربوهيدرات في الأوساط الحامضية (Juneja et al.,2013,4615; Fateme and Mohsen,2016,134).

### 3- المواد المغذية و الأملاح

يُعد النتروجين والفوسفات نوعين من المغذيات المهمة لنمو خلايا الطحالب واستقلابها، إذ يُعد النتروجين عنصراً أساسياً لتكوين البروتينات والأحماض النووية، أما الفوسفات فهو جزء من العمود الفقري للحمض النووي DNA و

RNA، كما أنها تُعد أيضًا مكونًا رئيسيًا للفوسفوليبيد. وليس من غير المعتاد أن تنمو الطحالب من دون وجود المغذيات (Harris et al., 1986,89).

كان أول وسط استعمل لإستزراع طحالب الكلادوفورا في عام 1973 بفضل Bitcarine و Hacks اللذين استعملتا النترات والفوسفات. ويشكل النتروجين 7-20% من الوزن الجاف للخلية الطحلبية في حين يشكل الفوسفات 1% من الوزن الجاف لها (Hu et al., 2004).

وتعد الأمونيا المصدر النتروجيني المفضل من الأملاح اللاعضوية، ويمكن توفيرها طبيعيًا في المياه بوساطة البكتريا المفككة للمواد العضوية، ويوجد أشكال لاعضوية أخرى للنتروجين مثل الأمونيوم، النترات، النتريت. وقد استعمل مستخلص الخميرة كمصدر عضوي للنتروجين (Ross et al., 2018,1)، إذ تبيّن أن تراكيز النتريت فوق 0.077 – 1.057 ملغ/ل في وسط نمو طحلب *Cladophora glomerata* لم يكن لها تأثير في نمو الطحلب. إلا أن المستوى العالي من النتريت يتصف بتأثير سام في النمو وربما يؤدي إلى نمو مستعمرات صغيرة من الطحلب (Robinson and Hawkes, 1986,443). وعندما تكون درجات الحرارة ضمن الحدود المثلى لنمو الطحالب، تميل الطحالب عديدة الخلايا إلى تكوين الكربوهيدرات ضمن كتلتها الحيوية في ظروف الحرمان من النتروجين، وعند توافر النتروجين فإنها تقوم باصطناع البروتين والصبغ (Chopin et al., 1985, 288; Smit et al., 1997, 476). كما وجد أن تركيز النتروجين المثبط لنمو الطحالب وحيدة الخلية حتى 2000 ميلي مول/ل (Kallqvist et al., 2003,480).

كما أدى الحرمان من النيتروجين أيضًا إلى انخفاض في تخليق اليخضور وهذا يؤدي إلى زيادة الكاروتينات في الخلايا. وهناك العديد من الأبحاث التي درست تأثير مصدر النتروجين وتركيزه في تركيب الطحالب (Kilham 1973,50; Stephenson et al., 2010,50; Heraud et al., 2005,221; Hu, 2004,89; et al., 1997,593)، ففي حالة الحرمان من النتروجين فيحصل تراكم للدهون والكربوهيدرات كرد فعل لبقاء الطحلب إذ تتوقف الخلايا عن الانقسام وتنتج إلى تخزين الطاقة على هيئة كربوهيدرات (Juneja et al., 2013,4619)، ووفقاً لـ Juneja فان نقص النتروجين أدى إلى انخفاض في تكون الكتلة الحيوية، ووصف هذه الحالة بالإجهاد "Stress".

ويُعد الفوسفات المفتاح الأساسي في نمو الطحالب، ومسؤولة عن تصنيع الحموض النووية ونقل الطاقة مثل الناقل NADPH (نيكوتين أميد أدينين ثنائي نكليوتيد الفوسفات) الذي يعمل على تخفيض انطلاق غاز ثنائي أكسيد الكربون في عملية التركيب الضوئي في دورة كالفن Calvin Cycle وتكوين الكربوهيدرات (Lapointe, 1986,395; Raven, 2013,1)، وتوجد الفوسفات في المياه بصورتها العضوية أو اللاعضوية، أدى انخفاض تركيز الفوسفات إلى 0.7 ميكروغرام/ل في الشهر 6 و 7 إلى انخفاض في الكتلة الحيوية للطحلب إلى 32 غ/م<sup>2</sup> لكن ازدياد الفوسفات 1.4 ميكروغرام/ل في الشهر 8-9 ترافق مع ارتفاع الكتلة الحيوية للطحلب إلى 70 غ/م<sup>2</sup> وذلك في دراسة سابقة على طحلب الكلادوفورا النامي في بحيرة Michigan - شمال شرق الولايات المتحدة الأمريكية (Bootsma et al., 2005,10)، كما وجد Figueira وآخرون (2021,7) أن المعاملة التي استعمل معها الفوسفات على تركيز 4 ميلي مول من أجل إكثار الطحلب الأخضر *Ulva fasciata* كانت هي الأعلى في محتواها من الكربوهيدرات مقارنة بمعاملة الشاهد، إلا أن التراكيز المرتفعة من الفوسفات كانت ذات تأثير سلبي. ووجد Robinson و Hawkes (1986,443) أن تركيز الفوسفات الذي

يتوقف عنده نمو الطحالب كان 4.9 ملغ/ل، ويكون معدل نمو الطحلب عالياً بمستويات الفوسفات لحد 2 ملغ/ل، نترات لحد 15 ملغ/ل، نترت لحد 1 ملغ/ل، وأمونيا بتركيز ضئيلة. وبالمقابل فإن الحرمان من الفوسفات يقلل من اليخضور أ و المحتوى من البروتين، ومن ثم زيادة المحتوى من الكربوهيدرات في الخلايا الطحلبية، كما لوحظ أن التجويع من الفوسفات في طحلب *Selenastrum minutum* يقلل من معدل التنفس (Juneja et al., 2013, 4617-4619).

تُعد الملوحة هي عامل مهم آخر مسؤول عن تغير التركيب الكيميائي في الطحالب، ويؤدي ارتفاع الملوحة حتى 0.5 مول كلوريد صوديوم إلى زيادة معدل النمو، وارتفاع محتوى الكربوهيدرات ومحتوى الدهون في طحلب *Botryococcus braunii* النامي في المياه العذبة، ومع ذلك تم الحصول على أعلى كتلة حية للطحالب في أدنى مستوى ملوحة، إلا أن دراسة أخرى على نفس الطحلب أبلغت عن انخفاض في محتوى البروتين مع محتوى الكربوهيدرات والدهون مع زيادة في الملوحة بسبب عدم قدرة الطحالب على التكيف مع الملوحة العالية (Juneja et al., 2013, 4617). وذكر Pereira وآخرون (2017, 562) أن لتركيز الملوحة الدور الرئيس لتكون الفينولات الكلية في طحالب *Acanthophora spicifera* النامية ضمن الظروف المخبرية.

إن نمو الطحالب يتأثر بوجود عناصر مغذية معدنية أخرى (علي نظام، 2009، 97)، فقد انخفض معدل نمو طحلب *Cladophora glomerata* على نحو معنوي بوجود شوارد النحاس في وسط نمو الطحلب بتركيز 0.3 و 0.8 ملغ/ل، عند قيم pH 6.7 و 8 على التوالي (Roux, 1994, 17)، وكذلك فقد انخفض نمو طحلب *Cladophora* عندما كان تركيز النحاس دون 0.1 ملغ/ل، وتركيز الزنك 0.25 ملغ/ل، وتوقف نمو الطحلب عندما أصبح تركيز النحاس 1 ملغ/ل، والزنك 0.5 ملغ/ل، وكلاهما يتصف بتأثير سلبي في المحتوى من السكريات وزيادة طفيفة للبروتين ضمن الكتلة الحيوية للطحلب، ولكلا العنصرين تأثير في عملية التركيب الضوئي (Cao et al., 2015, 16536, 16538, 16540).

#### 4- الكربون:

يُعد الكربون أحد العناصر الغذائية الرئيسة الأخرى التي يجب توفيرها في وسط نمو الطحالب، فهو عنصر ضروري لعملية التمثيل الضوئي ومن ثم نمو الطحالب وتكاثرها. بعد تثبيت الكربون بواسطة الطحالب سينتهي به الأمر في ثلاث جهات؛ حيث سيتم استخدامه إما: (أ) للتنفس؛ (ب) كمصدر للطاقة؛ أو (ج) مادة خام لتكوين خلايا إضافية. وجد Munir وآخرون (2015, 549) أن طحالب الكلوريل الخضراء النامية في ظروف ضخ الهواء حققت أعلى معدل نمو مقارنة بمثيلاتها النامية من دون ضخ هواء. أشار Gordillo (1998, 464) إلى أن ارتفاع تركيز ثنائي أكسيد الكربون في وسط نمو *Spirulina platensis* أدى إلى ارتفاع محتواها من الكربوهيدرات، وتقليل المحتوى من البروتينات وأصبغة اليخضور في الخلايا، كما أن هذا التغير في التركيب الكيميائي في الخلية ترافق مع انخفاض تكون الكتلة الحيوية. وجرت العادة على استعمال مضخات الهواء بغرض تحقيق التنشيط وتحقيق التبادل الهوائي (Juneja et al., 2013, 4620).

#### 5- درجة حرارة وسط النمو:

تُعد درجة الحرارة من أهم العوامل البيئية المؤثرة في معدل نمو الطحالب، حجم الخلية، والمكونات الكيميائية للطحالب، تنمو الطحالب على درجات حرارة من 15 حتى 40 م° بحسب نوع الطحالب، ويزداد معدل النمو

بارتفاع درجة حرارة الوسط حتى الوصول إلى درجة الحرارة المثلى، والعكس صحيح بعد ذلك (Renaud *et al.*, 2002,201, Juneja *et al.*, 2013,4612). إذ يؤدي ارتفاع درجة حرارة وسط نمو الطحالب عن القيمة المثلى إلى تراجع اصطناع البروتين ومن ثم انخفاض معدل نمو الطحالب (Konopka and Brock, 1978,575) وإن التعرض لأي نوع من الإجهاد خلال فترة النمو، يؤدي إلى زيادة نسبة الدهون والكربوهيدرات في الكتلة الحيوية للطحالب، يقابلها نقصان في نسبة البروتين. وتقل درجات الحرارة المنخفضة السيولة في غشاء الخلية، وتقوم الخلايا بزيادة مستويات الأحماض الدهنية غير المشبعة لزيادة السيولة. كما أن لدرجة الحرارة تأثيراً كبيراً في تكوين الكاروتينات، فالكاروتينات تمتص طاقة الضوء لاستخدامها في التمثيل الضوئي، كما أنها تحمي اليخضور من التلف الضوئي، ولوحظ تراكم الكاروتين في أنواع مختلفة من الطحالب بازدياد درجة الحرارة (Juneja *et al.*, 2013, 4614). وإن أفضل نمو للطحالب الخضراء بشكل عام كان في درجات حرارة من 26 – 30م°، أما طحلب الكلادوفورا فينمو ضمن المجال 5-23م° (Latata, 1991;126; Michalak and Messyas, 2020,139)، و(عكو وآخرون 2017، 95).

#### 6- الضوء:

يُعد الضوء من العوامل البيئية المهمة جداً والتي تؤثر في نمو الطحالب، تستعمل الطحالب الطاقة الضوئية في عملية التركيب الضوئي من أجل تحويل ثنائي أكسيد الكربون إلى سكر (Latata, 1991,128; Gacesa *et al.*, 1998,1137)، إذ يتأثر معدل النمو النسبي في الطحالب بارتفاع أو انخفاض شدة الإضاءة ومدتها نتيجة لتغير نوع الصباغ بسبب تضرر طبقة الصفيحات (الصناعة الخضراء) وعدم التمكن من إفراز الأنزيم الخاص بتثبيت ثنائي أكسيد الكربون، فمثلاً انخفض معدل نمو طحالب *Dunaliella* إلى 60% عند ارتفاع شدة الإضاءة عن القيمة المثلى وترافق ذلك مع انخفاض المحتوى البروتيني وارتفاع المحتوى الدهني ضمن الكتلة الحيوية لهذا الطحلب (Gordillo *et al.*, 1998,464)، وأدى انخفاض شدة الإضاءة إلى ارتفاع المحتوى البروتيني ضمن الكتلة الحيوية لدى مشطورات *Phaeodactylum tricornutum* في حين أدى ارتفاع شدة الإضاءة إلى ارتفاع المحتوى الكربوهيدراتي (Juneja *et al.*, 2013,4621). وعندما تصطنع الكربوهيدرات فهذا مؤشر على توقف عملية التركيب الضوئي (Araya *et al.*, 2010,374).

ولشدة الإضاءة فقط دورٌ في اختلاف تكون الفينولات ضمن الكتلة الحيوية في الطحالب الخضراء (Greg and David, 2003,35-38)، يمكن تحسين كفاءة استخدام الضوء عن طريق إطالة الفترة المظلمة تحت ظروف شدة الضوء العالية، وهذا يسمح لخلية بالاستفادة بشكل كامل من عملية التمثيل الضوئي من خلال النقاط الفوتونات وتحويلها إلى طاقة كيميائية ومن ثم تجنب آثارها الضارة (Juneja *et al.*, 2013,4615).

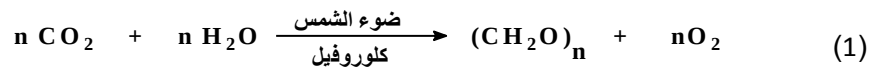
#### 7 - معدل النمو النسبي:

تتميز الطحالب عديدة الخلايا عموماً وطحالب الكلادوفورا خصوصاً بنمو سريع في ظل زيادة خصوبة المياه، وعند معدلات تدفق مناسبة وظروف بيئية جيدة من شدة الإضاءة ومدتها وغيرها، إذ يزداد معدل النمو وتتشكل الكتلة الحيوية للطحالب وتؤدي إلى حصول تجمعات كبيرة منها (Nutaute *et al.*, 2022,17)، ومعدل النمو هو التغير في عدد الخلايا، ويمثل التوازن بين التكاثر والخسائر الناجمة عن موت الخلايا أو فقدها. وتتمثل

عمليات الفقد في: العدوى من مختلف مسببات الأمراض وغرق الخلايا (علي نظام، 2009، 5)، وتتميز الطحالب الخضراء بفترتين للنمو المفرد Bloom (الازدهار) وذلك في فصل الربيع والخريف (عوض وآخرون، 2000، 71). ويجب الإشارة إلى التأثير المشترك لجميع العوامل السابقة مثل تأثير الظروف البيئية والمغذيات ونوعها ودرجة حموضة وسط النمو المؤثرة في المحتوى الكربوهيدراتي للطحالب الخضراء (Juneja *et al.*, 2013, 4630).

### 1-5- عديدات السكاريد

تصطنع الكربوهيدرات في النباتات الخضراء والطحالب بواسطة سلسلة من التفاعلات تعرف بالتمثيل أو الاصطناع الضوئي Photosynthesis. تمتص الطاقة اللازمة من أشعة الشمس وبمساعدة اليخضور لتحويل ثاني أكسيد الكربون والماء إلى كربوهيدرات وأكسجين كما هو موضح في المعادلة 1:



توجد الكربوهيدرات في الطحالب إما في الجدار الخلوي على هيئة عديدات السكاريد، ويخزن القسم الآخر على هيئة نشاء في الصانعات الخضراء (Pieper *et al.*, 2012, 168). وصفت عديدات السكاريد بأنها سلاسل كبيرة من السكريات البسيطة، والمرتبطة معاً بروابط تساهمية تسمى الروابط غليكوسيدية يمكن الحصول عليها من البكتريا، الفطريات و الطحالب (Ismail *et al.*, 2013, 31; Fernando *et al.*, 2018, 2; Ghoneim *et al.*, 2016, 2; Silva *et al.*, 2022, 1).

ولكونها ذات بنية معقدة التركيب، فهي ذات وزن جزيئي عالٍ، وهي شائعة الانتشار في الطبيعة. وتختلف عديدات السكاريد في طبيعة وحدات السكر الأحادي المتكررة، ونوع الرابطة الغلوكوزيدية، وطول السلسلة وتفرعها. كما وتختلف هذه المواد فيما بينها في الخواص الفيزيائية والكيميائية، كما أنها تتميز عن السكريات البسيطة في كونها غير مختزلة وليس لها طعم حلو، ولا تعطي أوزارونات، وكل هذه الحقائق تعود إلى أوزانها الجزيئية العالية. وتختلف الوظائف الحيوية لعديدات السكاريد اختلافاً كبيراً، فالنشاء والجليكوجين هما مواد غذائية في النباتات أو الحيوانات؛ لذا تسمى سكريات إدارية، والسيليلوز والكتين هي مواد تركيبية في النبات والقشريات على التوالي؛ لذا تسمى سكريات بنوية، كما أنها تمتلك وظائف أخرى كالهيبارين الذي يُعد مادة مضادة لتخثر الدم (الصالح ومحمد، 2020، 37)، وهناك عديدات سكاريد أخرى لها وظائف خاصة كما هو الحال في عديدات السكاريد ذات المصدر الطحلي. ومن أشهر عديدات السكاريد الكبريتية أو غير الكبريتية المستخلصة من الطحالب هي الكارجينان Carrageenan والأغار Agar من الطحالب الحمراء، الألجينات Alginate، الفوكان Fucan، الليمنارين Laminarin من الطحالب البنية، والأولفان Ulvan من الطحالب الخضراء، كما أمكن استخلاص السلولوز من جميع هذه الطحالب، يُعد الأولفان عديد سكاريد كبريتي ذواب في الماء وله العديد من الخواص الفيزيائية والكيميائية و الحيوية المميزة له والتي تجعله مؤهلاً للدخول في العديد من التطبيقات مثل الصناعات الغذائية، الصيدلانية، والطبية. يتكون بشكل رئيسي من سكر الرامنوز والكاليلوز، أحماض يورانية

كحمض الجلوكورونيك أو الإيدورونيك. ويتراوح وزنه الجزيئي بين 189 - 8200 كيلو دالتون (*et al.* 2016,4;Perez *et al.*, 2012,505;Kraan). وقد أمكن تحديد نوعين من السكريات الثنائية المكونة له:

أولاً- حمض الأولفانبيورونيك Ulvanobiuronic acids وله نوعان هما:

حمض الجلوكورونيك Glucuronic acid و الرامنوز Rhamnose و 3 - سلفات sulfate يدعى  $A_{3S}$ ، حمض

الإيدورونيك Iduronic acid و الرامنوز Rhamnose و 3 - سلفات sulfate يدعى  $B_{3S}$

ثانياً- الأولفانوبيوسيس Ulvanobioses وله نوعان: هما الكزايروز Xylose و الرامنوز Rhamnose و 3 -

سلفات sulfate يدعى  $U_{3S}$ ، الكزايروز Xylose و 2- سلفات sulfate و الرامنوز Rhamnose و 3 -

سلفات sulfate يدعى  $U_{2'S3S}$  (Kidgell *et al.*, 2019,4)، كما هو مبين في الشكل 2.

إذ يتكون الأولفان من ارتباط كل من سكر الرافنوز والكزايروز مع الحموض السكرية Uranic acide (

الغلوكورونيك أو الإيدورونيك) لتكون أنواعاً أربعة للأولفان بناءً على موقع الارتباط؛ ويستعمل الرنين

المغناطيسي النووي لغرض تحديد مواقع الارتباط تلك (Arata *et al.*, 2017, 5). إضافة إلى ذلك توجد كميات

بسيطة من سكر الغلوكوز، الغلاكتوز والمانوز والتي تختلف في وجودها ضمن عديد السكاريد هذا باختلاف بيئة

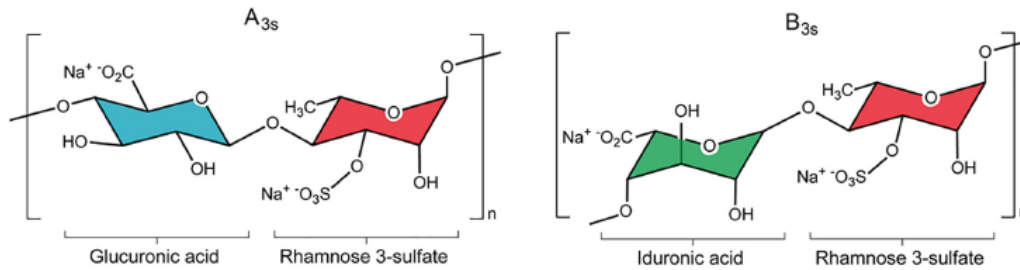
نمو الطحلب، وهذا التركيب شائع في طحالب المياه المالحة والعذبة (Kidgell *et al.*, 2019, 2). هذا وتختلف

السكريات البسيطة المكونة لعديدات السكاريد الكبريتية ضمن النوع نفسه (Surayot *et al.*, 2016,980;

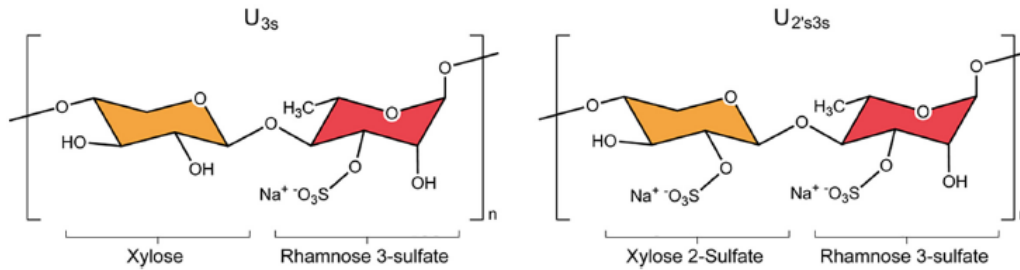
Arata *et al.*, 2017,5)، وقد استعملت العديد من التقنيات من أجل تشخيص زمر المركبات المكونة للمركبات

الداخلية في تركيب الأولفان مثل الأشعة تحت الحمراء والكروماتوغرافيا (Barakat *et al.*, 2022,834).

#### Ulvanobiuronic Acids



#### Ulvanobioses



الشكل 2. السكريات الثنائية المكونة لأنواع الأولفان المصدر (Kidgell *et al.*, 2019)

## 1-6- طرائق استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من الطحالب

نالت عديدات السكاريد المستخلصة من الفطريات، البكتريا والطحالب اهتماماً واسعاً في مجال التقانات الحيوية والمجالات التجارية ودخلت في التطبيقات الغذائية، الصيدلانية والتجميلية ، وينصح باستخلاص عديدات السكاريد من هذه المصادر لقصر دورة الحياة لدى هذه الأحياء وهذا ما يعكس الإنتاج السريع مع إمكانية التحكم بظروف النمو (Ismail, 2013,4; Ghoneim et al.,2016, 5; Fernando et al.,2018,4; Silva et al.,2022,2). إن استخلاص عديدات السكاريد من الطحالب يتأثر بمرحلة نمو الطحالب وبظروف الاستخلاص مثل التفريغ الهوائي، درجة الحرارة، زمن الاستخلاص وبمذيب الاستخلاص، وأخيراً بطريقة الاستخلاص (Hernandez et al.,2009,736; Cui et al.,2014,356)، إذ تستخلص عديدات السكاريد من الطحالب عندما تصل إلى مرحلة النمو المستقر (Song et al.,2018,3). وأثبت أن الاستخلاص بظروف التفريغ الهوائي كان الأفضل لاستخلاص عديد السكاريد Succinoglycan مقارنة بالظروف العادية (Andhare et al.,2017,341).

تؤثر درجة الحرارة على نقاوة المركبات، المردود، تُستخلص عادةً عديدات السكاريد من الطحالب على درجات حرارة 70- 90 °م (Shi et al.,2007,103; Cui et al.,2018,4)، وتكون زيادة زمن الاستخلاص مفيداً لاستخلاص عديدات السكاريد عندما تكون درجة حرارة الاستخلاص مناسبة مثل استخلاص عديد السكاريد من الكركديه وطحالب الكلوريل، في حين حدد زمن 30 دقيقة مناسباً لاستخلاص عديد السكاريد من فطر *Volvariella volvacea* (Feng et al.,2015,974; Song et al.,2018,7; Cui et al.,2018,4).

عندما تكون نسبة المذيب إلى الطحلب الجاف قليلة جداً فلن يحصل استخلاص كامل لعديد السكاريد، أما عندما تكون نسبة المذيب إلى الطحلب الجاف مرتفعة جداً فتصبح عملية الاستخلاص غير مجدية من الناحية الاقتصادية (Zou et al.,2011,505).

وتقسم طرائق استخلاص عديدات السكاريد من الطحالب إلى طرائق تقليدية وأخرى حديثة، إذ تستعمل أجهزة السكسوليه، المجانسة الحرارية، الكلافنجر، المبخر الدوار والحمام المائي في طرائق الاستخلاص التقليدية، في حين تستعمل الأمواج فوق الصوتية، الأنزيمات، والميكروويف في الطرائق الحديثة (Cui et al.,2014,355; Meyer and Terry,2008,7440; Fourniere et al.,2019,1; Le et al.,2019,8)، في طرائق الاستخلاص التقليدية يستخدم طيف واسع من المذيبات على تراكيز 50- 80 % في حين تستعمل طرائق الاستخلاص الحديثة الماء بشكل رئيسي مع إمكانية استعمال بقية المذيبات (Cui et al.,2014,357; Essa et al.,2018,4). ومن طرائق الاستخلاص الحديثة هي الاستخلاص بواسطة الأنزيمات التي تعتمد على تحطيم جدر الخلية مثل أنزيمات *alcalase-protease* و *Cellulase*، وهي تعتمد على أنزيمات الحلمة وغالباً ما تمنح أسماء تجارية مثل أنزيم *Viscozyme* لاستخلاص البكتين و أنزيم *AMG* لاستخلاص النشاء. أثبتت التجارب تفوق طرائق الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية على الطرائق التقليدية (Zhu et al., 2010, 106; Fourniere et al.,2019,15; Le et al.,2019,8)، إذ تأكد تفوق طريقة

الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية على الطريقة التقليدية (الحمام المائي) عند استخلاص عديد السكاريد من الطحلب الاحمر *Sargassum muticum*، إذ أمكن الحصول على مردود أعلى Hariharasubramanian (et al.,2015,1365; Fernandez and Munoz,2018,326).

وتعرض طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية مزايا عديدة من شأنها الحفاظ على المركبات ذات الفاعلية الحيوية، لأنها تستعمل درجات حرارة استخلاص منخفضة، زمن استخلاص قصير، واستهلاك طاقة منخفض وكمية قليلة من المذيبات (Zhong and Wang, 2010, 19; Kumar et al.,2021,9). إن اختيار نوع المذيب يعتمد على نوع المادة المراد استخلاصها (Truong et al.,2019,2)، وجرت العادة على استعمال المتانول، الايتانول والأسيتون بتركيزات مختلفة حتى 80%، إضافة إلى استعمال الماء لاستخلاص عديدات السكاريد من الطحالب (et Ajanal et al.,2012,198; Mahdi-Pour et al.,2012)، وأخبر عن استعمال الايتانول 50% وعلى درجة حرارة استخلاص منخفضة باستعمال الأمواج فوق الصوتية لاستخلاص عديد السكاريد من الطحلب البني *Silvetia compressa* (Vazquez-) (Rodriguez et al.,2019,1441)، وكذلك الأمر في حال استعمال المتانول 80% لاستخلاص عديد السكاريد من نبات *Dendrobium candidum* (Cui et al.,2018,1). ويعد الماء والأسيتون من أكثر المذيبات المستعملة لاستخلاص عديدات السكاريد من الطحالب (Righini et al., 2019,299)، وتضمن المذيبات مثل المتانول، الايتانول والأسيتون خلو المادة المراد استخلاصها من أصبغة اليخضور (Pokorny and Korczak,2001,322).

## 1-7 - خواص عديدات السكاريد الكبريتية

أظهرت العديد من الدراسات امتلاك الطحالب على المركبات ذات الفاعلية الحيوية مثل الأصبغة، البروتينات، الستروولات، الحموض الدهنية، الفيتامينات وعديدات السكاريد والتي تُعد آمنة وغير مناعية (مواد تحث على الاستجابة المناعية لجسم الإنسان أو الحيوان)، وأمكن استعمال هذه المواد كمركبات مضادة للبكتيريا، الفطريات، الفيروسات، كما أنها تمتلك خواصاً مضادة للتأكسد (Ivanova et al.,1994,92; Al-Moula et al.,2017,51; Essa et al.,2018,13; Munir et al.,2019,4-6; Abd-El Hafez et al.,2020,277; Wang et al.,2021,39).

ووجد أن الأولفان كان ناجحاً في علاج سرطان الكبد وسرطان القولون وذلك نتيجة لاختبارات أجريت على فئران التجارب (Ahmed and Ahmed, 2014,205). وفيما يخص عديدات السكاريد المستخلصة من الطحالب فإن خواصها ذات الفاعلية الحيوية تتعلق بوزنها الجزيئي، ولاحتوائها على مجموعة السلفهديريل والحموض السكرية (Sun et al.,2014,5; Barakat et al.,2022,838) Uranic acide

## 1-7 -1 - الخواص المضادة للبكتريا لعديد السكاريد الكبريتي

تكون الأنسجة الداخلية للفاكهة والخضروات واللحوم عادةً معقمة (في حال كون النباتات والحيوانات سليمة). لكن يمكن أن تصل الكائنات الحية الدقيقة (وفي مقدمتها البكتيريا) إلى تلك الأغذية إما من مصادر طبيعية مثل سطوح الفاكهة والخضار أو الجلد، الشعر، الفئاة الهضمية أو الضرع بالنسبة للمنتجات الحيوانية، أو من مصادر

خارجية متمثلة بالهواء أو التربة أو المجاري أو الحشرات وذلك في أثناء نقل الأغذية وتصنيعها (Ray, 2005,27)، وأشار Vander Zant و Splittstoesser إلى أن هنالك مجاميع بكتيرية تنسم بمقدرتها على تخريب المواد الغذائية ويعتبر البعض منها ممرضاً للإنسان نتيجة لتناول الأغذية الملوثة بها، حيث يتصف بعضها بمقدرتها على تحليل البروتينات من خلال أنزيماتها (المفرزة خارج الخلية) *proteinases* المحللة للبروتينات، ومن الأمثلة على هذه البكتيريا الأنواع التابعة لأجناس *Bacillus* , *Costridium* و *Pseudomonas* ، و بعضها الآخر يكون قادراً على تحليل الدهون من خلال أنزيماتها (المفرزة خارج الخلية) *lipases* الذي يقوم بتحليل الجلسريدات الثلاثية مثل بعض الأنواع التابعة لأجناس *Micrococcus* , *Staphylococcus* , *Pseudomonas*، في حين هنالك مجموعة من البكتيريا تكون محللة للسكريات، وتحلل هذه المجموعة من البكتيريا السكريات الثنائية والمعقدة إلى سكريات أبسط، وتضم هذه المجموعة أنواعاً من بكتيريا *Clostridium* (Vanderzant and Splittstoesser, 1992,20-187). وصفت مستخلصات الطحالب بأنها ذات تأثير مضاد للبكتيريا، وأجريت العديد من الاختبارات خارج الخلية من أجل تقدير فاعلية عديدات السكاريد الكبريتية المضادة للبكتيريا المستخلصة من الطحالب الخضراء والبنية والحمراء (وعلى نحو خاص الأولفان) سواء أكان هذه الطحالب ذات منشأ بحري أو من المياه العذبة، مثل اختبار الحساسية واختبار التركيز الأدنى المثبط للبكتيريا (MIC) سلبية وإيجابية الغرام كلاً على حدة، أشار Paulert (2009,268) إلى أن الأولفان كان قادراً على تثبيط طيف واسع من البكتيريا. يعزى النشاط المضاد للبكتيريا التي تتمتع بها عديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة من الطحالب إلى طبيعة تركيب هذا البلمر ذي البنية المتفرعة، والوزن الجزيئي، وتعدد الشحنات السلبية الموجودة (كونه غير متجانس)، ولا يتوقف الأمر عند ذلك بل يتعداه إلى منع تشكل الرقاقات الحيوية Biofilms (Teodoro et al., 1955, ; pierre et al., 2011, 490; Meenakshi., et al., 2019, 214; Jun et al., 2018, 305; Vishwakarma and Vavilala, 2019, 1014; Barakat et al., 2022, 836)، واتسمت عديدات السكاريد بمقدرتها على تثبيط نمو البكتيريا الممرضة للإنسان مثل:

*Escherichia coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Micrococcus luteus*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis* and *B. megaterium*

#### بكتيريا *Staphylococcus aureus*

هوائية، إيجابية الغرام، متحملة للضغط الإسموزي والمحللة للدهون، ذات مظهر كروي وبشكل عنقودي وبلون ذهبي، تتواجد في المياه والتربة، وتوجد بشكل طبيعي على الجلد وهذا ما يزيد إمكانية مساهمتها في حصول التلوث الثانوي للأغذية في أثناء تداول الأغذية. وتعد هذه البكتيريا من أهم المسببات المرضية المنقولة عن طريق الغذاء وتقوم بتكوين الرقاقات الحيوية، تقوم بإفراز السموم ومن ثم تسبب العديد من المخاطر على الصحة، ومن المؤكد بقاء هذه السموم حتى بعد المعاملة الحرارية للأغذية، إذ تنتقل سموم هذه البكتيريا بعد تناول الطعام الملوث بها إلى الدم مسببة حصول الغثيان، والإسهال. وتؤدي الإصابة ببكتيريا *Staphylococcus aureus* إلى الحصف، ذات الرئة، التهاب في نخاع العظام، والالتهابات في المنطقة البولية، وتسبب مرض التهاب الصرع عند الإبقار (Holeckova et al., 2002, 179–180; Pengov and Ceru, 2003, 3157; Hussain et al., 2017, 205)، ووجد أن تركيز عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من الطحلب البني *Turbinaria*

decurrens المثبط لبكتريا *Staphylococcus aureus* كان 2 مع/مل، في حين كانت قيمة MIC لنفس النوع البكتيري 40 مغ/مل وذلك لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب الأخضر *Chaetomorpha aerea* ، و 50 ميكروغرام/مل وذلك لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب الأحمر *Asparagopsis armata* (Teodoro et al.,1855, ; Pierre et al.,2011, 940; Meenakshi.,et al.,2019;214).

#### بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

تعد هذ البكتريا من البكتريا الهوائية، العصوية، سلبية الغرام، غير المتبوعة، مفرزة لصبغة البايوسين الخضراء (قاسم وآخرون، 2009، 1)، وكما تُعد هذه البكتريا من الأجناس البكتيرية المهمة لمقدرتها على تحليل المحتوى البروتيني والدهني، وهي واسعة الانتشار في الطبيعة، قادرة على التسبب في حصول الأمراض للإنسان، ولهذه البكتريا القدرة على العيش في بيئات متنوعة مثل التربة والمياه، وامكن عزلها من لحوم الأغنام Westman et al (2021,5 ; Al-Helwany et al.,2010,52)، و لدى استعمال الأولفان المستخلص من الطحلب الأخضر *Codium sp* كمضاد للبكتريا كانت النتائج: قطر منطقة التثبيط 10 مم تجاه *Pseudomonas aeruginosa* (Kallswari et al.,2016,18)، ووجد أن تركيز عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من الطحلب الأخضر *Ulva reticulata* المثبط لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* كان 2 مع/مل (Mahendran et al.,2015,4).

#### بكتريا *Enterobacter aerogenes*

وهي بكتريا لاهوائية، سلبية لصبغة الجرام، ذات شكل عصوي، غير متبوعة، مخمر لسكر اللاكتوز، قادرة على تحليل البروتين والدهون ومتحركة بواسطة الأسواط وتسبب مرض التهاب القولون، وهي بكتريا منقولة بواسطة الأغذية المتنوعة حتى التوابل Witkowska et al (2007,1242; Shaker et al.,2003,453; Kim et al.,2011,617-619; Baylis et al., 2011, 30; Hassan et al.,2012,618-620) قام Digrak وآخرون بالتحري عن تأثير بعض النباتات الطبية مثل السماق، الغار، والثوم الأبيض (على تركيز 10 ميكروغرام / قرص) تجاه بكتريا *E. aerogenes* فوجدوا ان قطر منطقة التثبيط كان 3، 8 و 8 مم على الترتيب، كما وجدو ان المضاد الحيوي الحاوي على زمرة الكبريت Streptomycin sulphate أعطى فاعلية تجاه هذا النوع البكتيري (2001,348)، وفي دراسة أخرى لتأثير مستخلص الطحلب الأحمر *Amansia multifida* باستعمال الهكسان والتي قام Lima-Filho وآخرون وجدوا أن قطر منطقة التثبيط كان 14.5 مم (2002,312).

#### بكتريا *Bacillus anthracis*

يوجد هذا النوع البكتيري بصورة شائعة في التربة، وهو عبارة عن خلايا عصوية، اللاهوائية اختياريًا إيجابية لصبغة جرام مكونة أبواغ ويسبب العديد من الإصابات للحيوان والإنسان. أمكن تمييز 89 سلالة منها، إلا ان السلالة القاتلة تدعى Ames. يسبب هذا النوع البكتيري داء الجمرة الخبيثة anthrax ، وهذا الداء في الأصل يصيب الأغنام والماعز والحيوانات الأخرى الآكلة للعشب، إلا أنه بالتلامس المباشر للإنسان مع هذه الحيوانات المصابة بدأ هذا المرض يصيب الإنسان. ومن الشائع استعمال المضادات الحيوية التي تحتوي على الكبريت من

أجل قتل هذا النوع من البكتريا مثل Sulfamethoxazole, sulbactam, Sulbenicillin (Bryskier, 2002, 469; Amoako *et al.*, 2013, 319-320; Swick *et al.*, 2016, 20; Finkeet *al.*, 2020, 40)

### 1-7-2- الخواص المضادة للفيروسات لعديد السكاريد الكبريتي

أخبر Ivanova وآخرون (1994,90) عن فاعلية استعمال عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من الطحلب الأخضر *Ulva lactuca* تجاه فيروس أنفلونزا الطيور والبشر كلاً على حد سواء، ووجدوا أن أدنى تركيز مثبط لنمو الفيروس تراوح بين 120-500 ميكروغرام/ مل على التوالي، كما أخبر عن فاعلية الأولفان تجاه فيروس التهاب الدماغ الياباني، في حين وجد أن للكارجينان فاعلية كبيرة تجاه فيروس Covid-19 (Hans *et al.*, 2021, 3).

### 1-7-3- الخواص المضادة للتأكسد لعديد السكاريد الكبريتي

تُعد عديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة من الطحالب ذات نشاط مضاد للتأكسد متفوقة على مثيلاتها من مضادات التأكسد، ويعود هذا إلى كونها آمنة، مستقرة وعديمة التأثيرات الجانبية مقارنة بمضادات التأكسد الصناعية، وتعود هذه الصفة المضادة للتأكسد التي تتمتع بها عديدات السكاريد المستخلصة من الطحالب إلى عوامل عديدة مثل نوعها، نقاوتها، وزنها الجزيئي، والسلاسل الجانبية والمجموعات المرتبطة بها (Barakat *et al.*, 2022, 837). وتتميز بفاعلية ممتازة عند إجراء الاختبارات المضادة للتأكسد مثل اختبار DPPH<sup>+</sup> و ABTS<sup>+</sup> (Song *et al.*, 2018, 10) وهذا ما يجعلها مؤهلة للدخول ضمن التطبيقات الغذائية (Muthukumar *et al.*, 2020, 2460).

### 1-8- تطبيقات استعمال عديد السكاريد الكبريتي في المجال الغذائي

تستعمل هذه السكريات تجارياً في الصناعات الغذائية والدوائية. وتُعد الطحالب مصدراً طبيعياً رخيص الثمن لهذه السكريات، وهي ذات شحنة سالبة بسبب الارتباط بين أنيونات مجموعة الكبريتات والوحدات السكرية. استعملت تجارياً في شركات الأغذية فهي بلمرات حيوية، لما لها من خاصية مضادة للميكروبات مثل تغليف المواد الغذائية، مكملات غذائية، الأعلاف (De Jesus Raposo *et al.*, 2014, 60). ويمكن استعمال عديدات السكاريد (الأولفان) المستخلصة من الطحالب الخضراء كعامل لزوجة Viscosity، مثخن قوام Thickening، تعليق suspension، تكتل Caking، تهلم Gelling، تغليف Encapsulation. واستعملت في الصناعات الطبية على نطاق واسع كمضادات تخثر، ومضادة للالتهابات، ومضادة للأورام (الورم الكبدي، سرطان القولون)، مضاد للفيروسات، وخفض الكوليسترول. وفي كل التطبيقات يجب أن يكون تركيز الأولفان المستعمل أقل من 500 ميكروغرام لإمكان هضمه بأنزيم (Ulvan-lyase) الموجود في الجهاز الهضمي. وأمكن تحديد السمية الخلوية Cytotoxicity لعديدات السكاريد الكبريتية ذات المصدر الطحلي بإجراء اختبار MTT. إذ لم يتم الكشف عن وجود سمية خلوية لعديدات السكاريد الكبريتية عند تركيز 100

ميكروغرام/مل؛ وكانت التركيزات السامة للخلايا بنسبة 50% ( $CC_{50}$ ) للفوكويدان والأولفان والمزيج منهما 1336 ميكروغرام / مل و 810 ميكروغرام / مل و 823 ميكروغرام / مل على الترتيب، وأظهرت هذه السكريات سمية أقل من الأدوية المضادة للفيروسات التجارية المعتمدة من إدارة الغذاء والدواء FDA (Ahmed and Ahmed, 2014,205; Muthukumar et al., 2022,2460).

## 1 - 9 - القمح وصناعة البسكويت

يُعد القمح، الذرة الصفراء، الرز، الشوفان، الشعير والدخن من محاصيل الحبوب الرئيسة المزروعة في العالم والتي تتبع إلى العائلة النجيلية إذ يكرس ما يعادل 70% من الأراضي الزراعية لغرض زراعة هذه المحاصيل. ويحتل القمح الموقع الأهم بين هذه الحبوب بدءاً من الإنتاج وحتى الاستهلاك (الشوا وآخرون، 2012، 1)، كما يُعد القمح من أهم المحاصيل الغذائية في العالم، ويتصدر قائمة محاصيل الحبوب من حيث المساحة والإنتاج. تشكل المساحة المزروعة بمحصول القمح على مستوى الوطن العربي قرابة 6% من إجمالي المساحة العالمية المزروعة بالحبوب (المنظمة العربية للتنمية الزراعية، 2017)، ويزرع القمح بنوعيه الطري والقاسي في سورية بمساحات كبيرة مروياً أو بعلاً، ونظراً للأهمية الاقتصادية البالغة لهذا المحصول واهتمام الدولة به فقد انتشرت زراعته في جميع المحافظات السورية وازدادت المساحة الكلية المزروعة به بنسبة 30% من 1.3 مليون هكتار عام 1991م إلى 1.7 مليون هكتار عام 2007م (المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية، 2018؛ محاسنة وصالح، 2022، 67). يتبع القمح إلى جنس *Triticum* من العائلة النجيلية *Gramineae*، ويقسم جنس القمح إلى عدد من الأصناف اعتماداً على عدد أزواج الصبغيات وفق ما يأتي:

القمح ثنائي الصيغة الصبغية

القمح رباعي الصيغة الصبغية

القمح سداسي الصيغة الصبغية

يُعد القمح المزروع *Triticum L* الأكثر انتشاراً في العالم ويقسم بحسب الصلابة الحبة إلى: أقماح قاسية (*T. turgidum var. durum*) وهي رباعي الصيغة الصبغية، وتكون مفضلة لصناعة المعكرونة، وأخرى طرية (*T. aestivum*) وهي سداسي الصيغة الصبغية، وتكون مفضلة لصناعة المعجنات (الشوا وواخرون، 2012، 14). يمتاز القمح القاسي بكبر حجم الحبوب والبلورية واللون العنبري الأصفر ويتأقلم بشكل واسع في المناطق البيئية لحوض المتوسط، وتكون نسبة البروتين فيه 12-16%، أما القمح الطري فيمتاز بالأندوسبروم النشوي، وتكون نسبة البروتين فيه 8-10% (كف الغزال وآخرون، 1992).

تصنع بروتينات القمح خلال فترة النمو الثمري للنبات إذ تتأثر كميتها بالعوامل التغذوية مثل كمية النتروجين المتوفرة خلال هذه الفترة، ومن ثم فإن نقص هذه المغذيات تجعل النبات يخفض من عملية تصنيع البروتينات المخزنة لتصنيع البروتينات الاستقلابية بالإضافة إلى تأثير العوامل البيئية. وتصنف بروتينات القمح اعتماداً على ذوبانية البروتينات إلى:

الأليومينات: ذوابة في الماء

الغلوبيولينات: ذوابة في المحاليل الملحية

الغليادينات: ذوابة في الكحول 60-70 %

الغلوتينينات: غير ذوابة في المحاليل السابقة، لكن يذوب جزء منها في القلويات .

عند مزج الدقيق مع الماء يتحد الغليادين والغلوتين مع مركبات أخرى مثل اللييدات والكربوهيدرات وعناصر معدنية لتشكيل كتلة لزجة مطاطية تدعى الغلوتين، ويكون الغليادين مسؤولاً عن صفة اللزوجة والغلوتين عن صفة المطاطية، ويمتلك الغلوتين ذوبانية منخفضة في الماء والمحاليل الملحية ويعود ذلك إلى محتواه المنخفض من الأحماض الامينية، يقسم الغلوتين إلى غليادين ذو وزن جزيئي بين 30 - 80 كيلودالتون وغلوتينين حتى عدة آلاف كيلو دالتون (عرموش وسمعان، 2015، 21).

يوصف البسكويت بأنه من المخبوزات واسعة الانتشار بين الشعوب وغالباً ما يُصنع من الأقماع الطرية (Sapirstein et al., 2007, 151; Caleja et al., 2017, 342)، فهو من الوجبات الخفيفة بسبب وفرة المواد الأولية الداخلة في تصنيعه وسهولة تصنيعه، وانخفاض تكلفته، وطعمه المرغوب، وانخفاض نسبة الماء فيه الأمر الذي يجعله يخزن فترات طويلة (Misra et al., 2014, 459; Chauhan et al., 2015, 939)، وكلمة البسكويت تعني الخبز المطبوخ مرتين "panis biscoctus" والتي كانت تحضر خصيصاً للبحارة (Arepally et al., 2020, 52).

يدخل دقيق القمح، والسكر والسمنة ضمن مكونات البسكويت (Caponio et al., 2006, 357) وعلى العموم فإن له نوعين القاسي والطري اعتماداً على المواد الداخلة في تصنيعه (Sudha et al., 2007, 1365)، لاسيما الدقيق، إلى جانب ظروف التصنيع مثل مدة العجن وفترة الراحة والخبز، إذ تؤثر الخواص الريولوجية لعجينة البسكويت في جودته، لأن طبيعة الغلوتين هي المسؤولة عن خاصية المطاطية والمرونة للعجين (Manohar and Rao, 1997, 197; Scott and Richardson 1997, 120; Goesart et al., 2005, 13)، إن الازدياد في استهلاك البسكويت على مستوى العالم يجعله أحد القطاعات الجذابة للتصدير لذلك فإن منتجي البسكويت يعملون على تنويع المنتجات من أجل تلبية رغبات المستهلكين وهذا يتطلب إنتاج منتجات جديدة أو تحسين منتجات موجودة أصلاً (Weibiao and Hui, 2014, 43). تم استعمال عوامل الإرجاع Reducing agents وذلك من أجل اضعاف الدقيق وبالتالي يصبح ضعيف وسريع الخط وذلك بتركيز تتراوح من 10 حتى 200 مغ/كغ دقيق مثل Cysteine، Sodium Metabisulfite، Potassium Sorbate، في حين استعملت عوامل الاكسدة Oxidizing agents من اجل تقوية شبكة الغلوتين، وبالتالي تحسين الاحتفاظ بغاز CO<sub>2</sub> وتحسين مسامية العجين، مثل Ascorbic Acid، Calcium Peroxide، Calcium Bromate حيث تضاف بتركيز قليلة 150 جزء بالمليون لكل كيلوغرام دقيق قمح، كما أن كلا العاملين تزيد من مدة حفظ المنتج (Abedi and Pourmohammadi, 2020, 6303-6308)، وتُضاف عوامل تعديل الغلوتين لتحسين الخصائص الريولوجية لعجين البسكويت (Dahunsi et al., 2013, 9)، مثل الصوديوم ميتا بيسلفيت (SMS) الذي يشق الروابط ثنائية الكبريتيد بين جزيئات الغلوتين وداخل الجزيء نفسه، ما يؤدي إلى انخفاض الوزن الجزيئي للبروتين وازدياد تمدد العجين (Stauffer, 1994, 232)، إذ تحدد طبيعة الشبكة الغلوتينية المصير التصنيعي للعجين وازدياد تمدد العجين (Gray and Bemiller, 2003, 14; Wieser, 2007, 117; Kaushik et al., 2019, 40) تُعرف

الأغذية الوظيفية Functional foods بأنها أي غذاء أو مكونات غذائية تحمل الفائدة الصحية للجسم وتقلل من المخاطر.

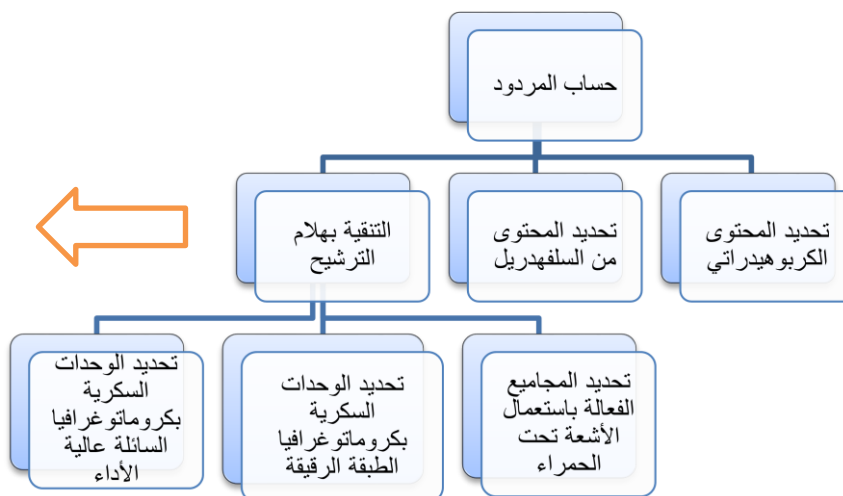
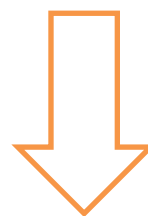
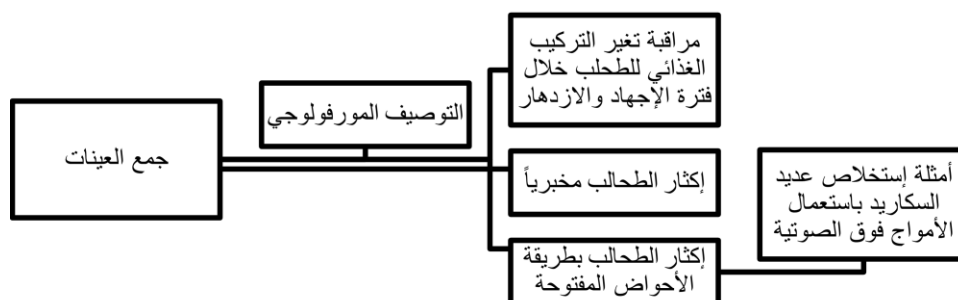
ولما كانت المركبات الكيميائية للطحالب مثل السكريات والزيوت ذات فائدة للصحة فهي تستأثر بأهمية كبيرة في أسواق الطعام والشراب في العالم (Vo and Kim,2013,16)، فعلى سبيل المثال استعمل الحمض الدهني أوميغا 3 المستخلص من الطحلب *Isochrysis galbana* في تدعيم البسكويت (Gouveia *et al.*, 2008,891)، وكذلك دُعم البسكويت بعديد السكر من بكتريا *Lactobacillus helveticus* (Hussein *et al.*,2010,225)، والمواد السكرية محلية لكنها عامل منكه وملون، كما أن السكر يربط الماء ويمنع نمو المكروبات ويطيل بذلك فترة حفظ البسكويت (Gallagher *et al.*, 2003,262). في صناعة المخبوزات يستعمل السمن والزيت على نطاق واسع، ويعرض الزيت خطورة عالية لاحتمال أكسدة الحموض الدسمة غير المشبعة إلى هيدروبيروكسيد ولاحقاً تشكل الأدهيدات والكيونونات (Izzreen and Noriham,2011,204)، وهذا يستوجب تدعيم المخبوزات ببعض الإضافات التي تمكنها من زيادة قيمتها الغذائية وإطالة مدة حفظها، وعليه فإن إضافة مركبات الطحالب يلفت الانتباه.

## الفصل الثاني

### المواد والطرائق

### Materials and Methods

## مخطط العمل



## 2-1-المواد والأدوات والأجهزة المستعملة

المواد الكيميائية المستعملة

يظهر الجدول (1) المواد الكيميائية المستعملة في إنجاز هذا البحث.

الجدول 1 . المواد الكيميائية المستعملة في البحث

| المادة                                                                            | الشركة المصنعة والبلد  |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| ماءات الصوديوم                                                                    | PRS-India              |
| إيتانول 99.9 %                                                                    | EMD-USA                |
| متانول 99.9%                                                                      | Sigma-Aldrich USA      |
| كلوروفورم 99.9%                                                                   | PRS-India              |
| أستون 99.9%                                                                       | Merck- Germany         |
| ن - بوتانول 99.5%                                                                 | Merck, Germany         |
| كزايولز 98 %                                                                      | Merck, Germany         |
| الرامنوز 98 %                                                                     | Merck, Germany         |
| الجلالكتوز 97 %                                                                   | Merck, Germany         |
| الرايبوز 98 %                                                                     | Merck, Germany         |
| الأرابينوز 98 %                                                                   | Merck, Germany         |
| حمض كلور الماء                                                                    | SDFCL-India            |
| حمض الكبريت                                                                       | Panreac, Spain         |
| حمض الغاليك                                                                       | Scharlau- Spain        |
| كاشف فولين - سيوكالتو                                                             | Sigma, Japan           |
| كربونات الصوديوم                                                                  | PRS-India              |
| كربونات كالسيوم                                                                   | Entrepreneurs, India   |
| كلوريد الصوديوم التحليلي                                                          | Surechem, England      |
| كربونات الصوديوم الهيدروجينية (Baking powder)                                     | Ishtar, Iraq           |
| هلام الترشيح نوع Sephadex gel G-100                                               | Sigma, Japan           |
| ألبومين المصل البقري                                                              | Sigma, Japan           |
| كلوريد البوتاسيوم                                                                 | Sigma, Japan           |
| مركب 1-2 ثنائي فنيل بكريل هدرأزول ( DPPH* )                                       | Sigma, Japan           |
| مركب ABTS <sup>+</sup><br>(2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonicacid) | Sigma-Aldrich- Germany |
| وسط BBM                                                                           | Scharlau, Germany      |
| حمض البوريك                                                                       | Scharlau, Germany      |

|                                 |                                                                   |
|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Scharlau, Germany               | الجيلاتين                                                         |
| Suttolk, England                | الفينول                                                           |
| Fluka, Switzerland              | كلوريد الباريوم                                                   |
| Fluka, Switzerland              | بيئة تنمية الطحالب                                                |
| Qualikems, India                | كبريتات البوتاسيوم                                                |
| Merck, Germany                  | صفائح الألمنيوم طراز F <sub>254</sub>                             |
| Sigma, Japan                    | حمض الأسكوربيك                                                    |
| Sigma, Japan                    | الترولوكس (حمض 6-هيدروكسي-2,5,7,8-تيترا ميثيل<br>كرومان-2-مethyl) |
| Riedel- De Haën-Germany         | امونيوم بيرسلفات                                                  |
| ottokemi , India                | بارافيلم                                                          |
| Shanghai, China                 | ورق ترشيح بمساميات مختلفة                                         |
| Hach permachem reagent, Germany | كواشف شوارد متنوعة                                                |
| HKM,China                       | الآغار المغذي                                                     |
| Scharlau, Germany               | المرق المغذي                                                      |
| Scharlau, Germany               | وسط مولر هلنتون آغار                                              |
| Scharlau, Germany               | وسط Sheep blood agar                                              |
| Scharlau, Germany               | وسط Sulfide Indole Motility (SIM) media                           |
| Sigma, Japan                    | وسط مأكونيكي آغار                                                 |
| Scharlau, Germany               | وسط Eosin methylene blue agar                                     |
| Sigma, Japan                    | وسط Cetramide agar                                                |
| Sigma, Japan                    | وسط آغار King A                                                   |
| Sigma, Japan                    | وسط آغار King B                                                   |
| Biolife,Italy                   | وسط Mannitol Salt Agar                                            |
| Bio brick pharma,india          | المضاد البكتري Cefterioxons                                       |
| Sigma, Japan                    | وسط Potato dextrose agar                                          |

## الأجهزة المستعملة في البحث

يبين الجدول 2 الأجهزة المستعملة في البحث

الجدول 2 . الأجهزة المستعملة في البحث

| الشركة المصنعة والبلد                | الجهاز                                                                                    |
|--------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| OPTIKA,Italy                         | مجهر ضوئي طراز B-180                                                                      |
| JSR,Japan                            | هزازة ميكانيكية                                                                           |
| JSR,Japan                            | حاضنة هزازة                                                                               |
| Thermo Fisher Scientific,USA         | مثقلة طراز Heraeus Labofuge 200                                                           |
| Hettich,Germany                      | مثقلة تعمل تحت التجميد طراز universal 320r                                                |
| IKA ,Germany                         | مبخر دوار طراز IKA RV10                                                                   |
| JOUD,Syria                           | مجعدة طراز Hilife                                                                         |
| Memmert,Germany                      | فرن كهربائي                                                                               |
| JSR-Japan                            | حمام مائي طراز JSWB-22T                                                                   |
| Velp Scientifica, Italy              | سخان كهربائي مع محرك مغناطيسي طراز AREC                                                   |
| Precise,Switzerland                  | ميزان رقمي                                                                                |
| Ivymen, Japan                        | جهاز تقطير الماء طراز AC-L8                                                               |
| CRISON,Spain                         | جهاز قياس pH                                                                              |
| Mecasys- Korea                       | المطياف الضوئي طراز Optizen                                                               |
| JSR-Japan                            | جهاز التعقيم بالحرارة الرطبة (اتوغلاف)                                                    |
| Jeken, China                         | حمام الأمواج فوق الصوتية<br>Ultrasonic Cleaner model:ps-60ar, jeken, 360<br>w,40khz-China |
| KnowItAll, UK                        | جهاز الأشعة تحت الحمراء<br>FT-IR-4200 type A-C077661018                                   |
| Nanbe,China                          | كبين الكشف بمساعدة الأشعة فوق البنفسجية على طول<br>موجي 254 نانومتراً.                    |
| Knauer, Germany                      | الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء (HPLC)                                               |
| Fisher Scientific Worldwide Inc, USA | جهاز ماكفرلند                                                                             |
| Brabender OHG, Germany               | جهاز الفارينوغراف                                                                         |
| Brabender Duisburg, Germany          | جهاز الاكستنسوغراف                                                                        |
| Hach lange , Germany                 | جهاز تقدير الشوارد طراز DR 2800                                                           |
| MILWAUKEE, Germany                   | مقياس شدة إضاءة أشعة الشمس طراز MW700                                                     |

|                                     |                                      |
|-------------------------------------|--------------------------------------|
| KRUSS, Germany                      | جهاز الرفراكتومتر طراز آب رفاكتورمتر |
| STUART, Germany                     | جهاز قياس درجة الانصهار SMP30        |
| Bellingham stenlay limited, England | جهاز قياس درجة الاستقطاب الضوئي      |
| Zhengzhou, China                    | كلداهل                               |
| Hunter Lab, USA                     | جهاز Hunter Lab                      |

### الأدوات المستعملة

استعمل العديد من الأدوات والأجهزة اللازمة لإنجاز البحث كما هو مبين في الجدول 3، وهي:

### جدول 3. الأدوات المستعملة في البحث

|                           |                                |                              |
|---------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| عدسة ميكرومترية           | صفائح زجاجية وسواتر            | أدوات تشريح                  |
| عبوات زجاجية بسعات مختلفة | أرلينات بسعات مختلفة           | بياشر بسعات مختلفة           |
| أنابيب ابندورف            | أنابيب تثقيب                   | أنابيب اختبار مختلفة الأحجام |
| ميكروبييت مع تيسات        | مقاييس مدرجة                   | حوامل أنابيب                 |
| مثقّب ( Drill bit )       | ماسحات قطنية                   | أطباق بترية                  |
| مخضات هواء مع توصيلات     | ميزان حرارة                    | أقماع زجاجية                 |
| منظم حرارة                | مصابيح إضاءة 1800 لوكس         | أحواض زجاجية                 |
| كبين فصل كروماتوغرافي     | فلتر Hplc                      | ابرة زرع                     |
| عبوات بلاستيك             | أنبوبة لزوجة (أنبوبة أويل هود) | حقيبة الديلزة                |

### 2-2- طرائق البحث

#### أولاً. الدراسة الحقلية (ضمن النهر)

#### 1- جمع العينات

جُمعت عينات الطحالب من مواقع مختلفة في سورية كالآتي:

نهر الفرات - محافظة دير الزور، نهر بردى، منطقة الربوة - محافظة دمشق، نهر سردي - محافظة دمشق، نهر الأعوج، بلدة جديدة عرطوز - محافظة ريف دمشق، مجرى وادي النضارة - محافظة حمص، النهر الكبير الشمالي - محافظة اللاذقية، خلال الأعوام 2019 - 2022. وضعت العينات في حافظات بلاستيك سعة 5 لترات ونقلت إلى مخبر الأحياء الدقيقة والطحالب في كلية العلوم، جامعة دمشق. يُشار إلى أن العينات جمعت في أثناء موسم الازدهار، وموسم الإجهاد الصيفي.

#### 2- الدراسة المورفولوجية، العزل والتنقية

بعد جمع الكتلة الحيوية لطحالب الكلادوفورا، جرى غسل العينة بالماء المقطر مرات عديدة بهدف إزالة جسيمات التربة والمواد العالقة، وأجري تحديد الطحلب مورفولوجياً باستعمال المجهر الضوئي ( Prescott,

137, 1970)، بوضع قطرة من الماء المعقم على شريحة زجاجية ثم نشرت خيوط الطحلب وغطيت بساترة زجاجية، وفحص الطحلب تحت المجهر الضوئي Olympus-cx41 على قوة تكبير  $10\times$ ، واستُعملت طريقة التخفيف المتسلسل Serial dilution للحصول على مزرعة وحيدة الطحلب Unialgal Culture حسب نظام الدفعة الواحدة، وذلك بأخذ العينة ووضعها في دورق مخروطي يحتوي على الوسط المعقم Algae Culture medium مدة 14 يوماً في غرفة الزرع والتنمية في ظروف المختبر الآتية: وضع 10 غ من الطحلب في دورق وإضافة 100 مل وسط التنمية إليها، مع مراعاة ضخ هواء مستمر 16 ساعة إضاءة: 8 ساعات ظلام، وشدة الإضاءة 1800 لوكس، كما ضُبِطت درجة الحموضة  $\text{pH} = 8$ ، وبدرجة حرارة 23 م° (John, 2005,300).

### 3- القياسات البيئية

رُصد تغير درجة حرارة الجو العظمى ضمن الموقع الجغرافي للأنهار خلال مواسم النمو، وحسبت مدة الإضاءة. وذلك بناء على بيانات الأرصاد الجوية.

### 4- إجراء الكشف الشاردي للمياه وقياس pH

كان التحري عن وجود شوارد الفوسفات، النتريت، النترات، الكبريتات، الكلوريد، النحاس، الحديد ضمن مياه الأنهار، باستعمال جهاز تقدير الشوارد الآلي DR2800-lange وتحديد قيمة pH باستعمال جهاز Orion pH Meter Model 420A (APHA,2003,14-41).

### 5- التحري عن تغير التركيب الكيميائي للطحالب النامية ضمن الأنهار خلال فصل النمو

أمكن ملاحظة تغير التركيب الكيميائي الغذائي للطحالب النامية في المواقع النهرية المختلفة خلال فترتي الازدهار والإجهاد الصيفي، حيث تم تقدير مايلي:

#### 5-1- تقدير المحتوى المائي للطحلب

أجري بتجفيف الكتلة الحيوية للطحالب باستعمال فرن التجفيف Memmert بدرجة حرارة 65 م° حتى ثبات الوزن (Lawton et al.,2013,3).

#### 5-2- تقدير الرماد

وضعت عينات الطحالب الجافة ضمن المرمدة نوع Wise Therm بدرجة حرارة 500 م° لحرق المادة العضوية. وحُسبت كمية الرماد كنسبة مئوية من الوزن الجاف (Lawton et al.,2013,3).

#### 5-3- استخلاص البروتين وتقديره

استخلصت وقدرت البروتينات المذابة من الكتلة الحيوية للطحالب بطريقة الاستخلاص المتعاقب الحمضي - القلوي وفقاً لطريقة التقدير الكمي للبروتين التي وضعها Lowry والتي عدلها Slocombe وآخرون

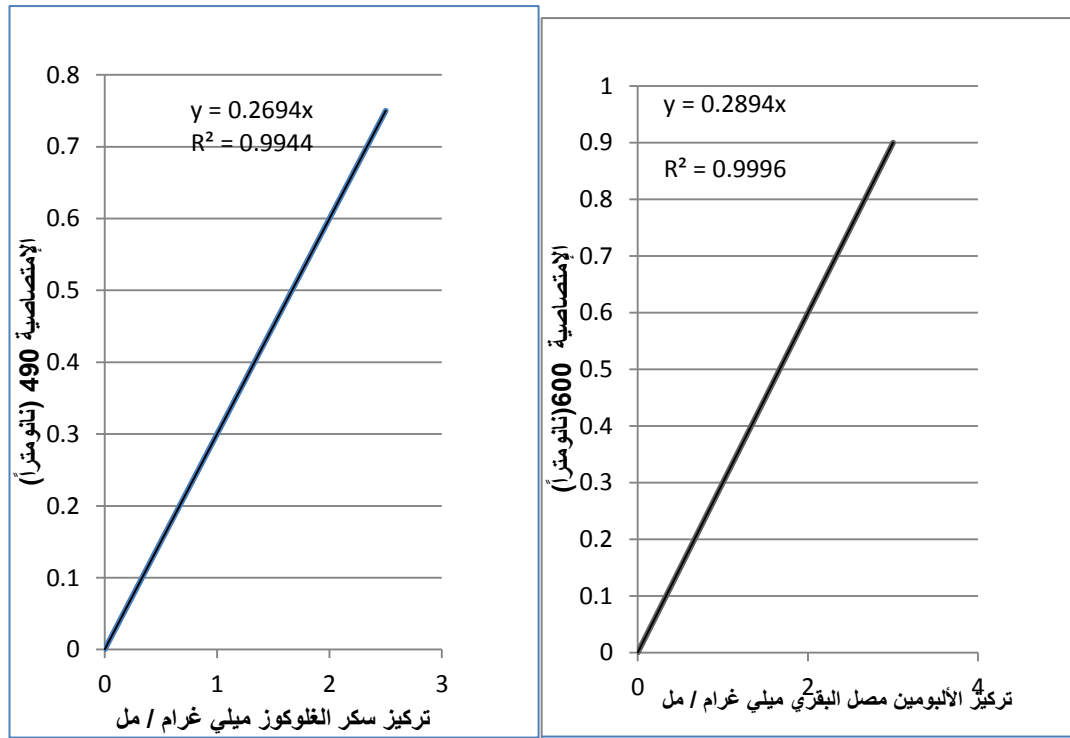
(2013,52)، ثم قيسَت الكثافة الضوئية للمستخلص على طول الموجة 600 نانومتراً، وحسبت نسبة البروتين من معادلة المنحنى المعياري لمحلول ألبومين المصل البقري (شكل 3).

#### 5-4 - استخلاص السكريات وتقديرها

سُحِق 10 ملغ طحلب جاف وأضيف إليه 10 مل ماء مقطراً، وأخضع المزيج للتثفيل على سرعة 5000 د/د، ثم جرى الترشيح باستعمال ورق الترشيح، كررت العملية 5 مرات (Herbert et al, 1971, 266). وأجري تقدير السكريات الكلية الذائبة وفقاً لطريقة فينول حمض الكبريت (Dubois et al., 1956, 352-353)، ثم قيسَت الكثافة الضوئية للمستخلص على طول الموجة 490 نانومتراً، وحسبت نسبة السكريات من معادلة المنحنى المعياري لمحلول الغلوكوز (شكل 4).

#### 5-5 - استخلاص الدهون وتقديرها

جففت الكتلة الحيوية للطحالب على درجة حرارة 50 °م مدة 3 ساعات، ثم طحنت، وبعدها جرى استخلاص الدهون وفقاً لطريقة Bligh and Dyer's (1959, 912).



الشكل 4. منحنى المعايرة لسكر الغلوكوز.

الشكل 3. منحنى معايرة الألبومين المصل البقري.

#### 5-6 - استخلاص الأصبغة وتقديرها:

أخذت ثلاثة غرامات من عينة الطحالب الجافة المسحوقة وأذيبت في 150 مل أستون مطلق طوال الليل وبدرجة حرارة 4 °م. ثم طبقت عملية تثفيل بسرعة 5000 د/د مدة 5 دقائق، وأخذ الجزء الطافي لتقدير الأصبغة

بالمطيافية الضوئية uv/vis spectrophotometer model optizen 2120uv plus (Dere *et al.*, 1998, 14). وحُسبت كمية الصباغ وفقاً للعلاقات الآتية:

$$Ca = 11.75 A_{662} - 2.350 A_{645}$$

$$Cb = 18.61 A_{645} - 3.960 A_{662}$$

$$C_{x+C} = 1000 A_{470} - 2.270 Ca - 81.4 Cb/227$$

$Ca$ : اليخضور  $a$ ،  $Cb$ : اليخضور  $b$ ،  $C_{x+C}$ : الكاروتينات والزانثوفيل

$A_{470}$ : امتصاص العينة عند طول موجة 470 نانومتراً .

$A_{654}$ : امتصاص العينة عند طول موجة 654 نانومتراً .

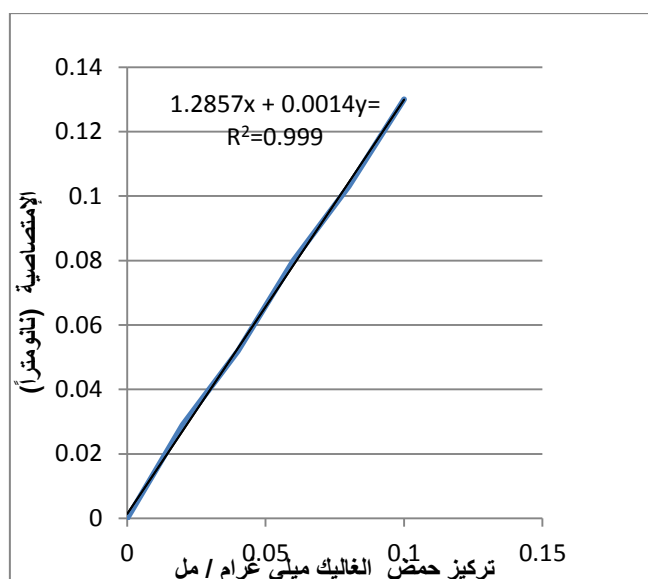
$A_{662}$ : امتصاص العينة عند طول موجة 662 نانومتراً وعبر عنها بالميكروغرام لكل غرام طحلب جاف.

أُجريت التحاليل بواقع ثلاثة مكررات لكل منها (Lichtentaler *et al.*, 1985, 591).

#### 5-7 - استخلاص الفينولات الكلية وتقديرها

أُجريت عملية استخلاص الفينولات الكلية وفقاً لطريقة Santos (2004, 184)، إذ أخذت 5 غرام عينة طحلب جاف مطحون ومزجت مع 125 مل بالإيثانول 60 % إنتاج Sham lab مع إجراء عملية المجانسة، ترك المزيج في الحاضنة الهزازة JSR model jssi-100 مدة 12 ساعة على درجة حرارة 30 م°، ثم أُجريت عملية التثقيب للمزيج على سرعة 8,000 د/د مدة 5 دقائق. ثم أُجري ترشيح للجزء الطافي بورق الترشيح، وأزيل المذيب بعملية التبخير.

قُدرت الفينولات الكلية في المستخلص الإيتيلي باستعمال طريقة كاشف فولين إذ أخذ 1 مل من مستخلص الطحالب وأضيف إليه 4.5 مل ماء مقطراً و100 ميكرو لتر كاشف فولين مع إجراء عملية الخلط للمزيج مدة 3 دقائق، بعدها أُضيف 300 ميكرو لتر من  $Na_2CO_3$  بتركيز 2% وحُضن على درجة الحرارة مدة ساعتين في الظلام، قيسَت الكثافة الضوئية للمزيج بطول موجة 760 نانومتراً (Kuru *et al.*, 2017, 16) وحسب تركيز الفينولات الكلية في العينة من المنحنى المعياري لحمض الغاليك (الشكل 5).



الشكل 5. المنحني القياسي لحمض الغاليك.

#### 6- تحديد المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية للطحلب النامية ضمن الأنهار

كان ذلك باستعمال طيف الأشعة تحت الحمراء، إذ جرى خلط الكتلة الجافة المطحونة للطحالب مع مسحوق بروميد البوتاسيوم، ثم أخضع الخليط لعملية الكبسلة لشخانة 1 مم لتحويلها على هيئة أقراص وجرى الكشف عن المجاميع الفعالة ضمن مجال التردد 4000 - 400 سم<sup>-1</sup> باستعمال جهاز FT-IR-4200typeA، بهدف دراسة تأثير تغير الظروف البيئية في تباين مجاميع الزمر الكيميائية الفعالة الموجودة ضمن الكتلة الحيوية للطحالب (Celekli *et al.*, 2016, 404).

#### ثانياً. إكثار الطحلب في المختبر

اكثر الطحالب ضمن ثلاثة أوساط مختلفة (وسط مياه الصرف الصحي المعقم، وسط مستخلص التربة، وسط BBM) بهدف التحري عن تأثير هذه الأوساط في النمو والتركيب الكيميائي للطحالب.

#### 1- أوساط النمو المستعملة:

##### 1-1- وسط مياه الصرف المعقمة على تركيز 10%:

جُمعت عينات من مياه الصرف الصحي من أحد المصارف بمنطقة دمر، نقلت إلى المختبر مباشرة، ثم تركت مدة ساعتين ليستقر الماء، بعدها تم تصفيتها على مرحلتين: المرحلة الأولى باستعمال ورق ترشيح Whatman رقم 1، والمرحلة الثانية باستعمال ورق ترشيح واطمان رقم 2. أخضعت عينات مياه الصرف الصحي بعد ذلك لعملية تعقيم على درجة حرارة 121 م°، مدة 20 دقيقة. أُجريت بعض التحاليل الكيميائية مثل: الكشف عن وجود شوارد الفوسفات والنترت والنترات والكبريتات والكلوريد والنحاس والحديد ضمن مياه الصرف الصحي باستعمال جهاز تقدير الشوارد الآلي Lange – DR2800 (APHA, 2003)، أما لتحديد قيمة pH فاستُعمل جهاز pH Meter طراز Orion Model 420A. ولإكثار في وسط مياه الصرف الصحي

المعقمة، أخذ 10 غ من كتلة الطحلب (وزن رطب)، وزرعت في حوض زجاجي سعة 3 لترات يحتوي على وسط مياه الصرف الصحي المعقمة 10%، وطبقت عملية التهوية باستعمال جهاز ضخ الهواء Aerating والإضاءة بحدود 16 ساعة إضاءة: 8 ساعات ظلام، وشدة إضاءة 1800 لوكس، الرقم الهيدروجيني  $\text{pH}=8$ ، درجة الحرارة 25 م° (Alawady and Alasady, 2012).

### 1-2- وسط مستخلص التربة:

أخذ 10 غ من كتلة الطحلب (وزن رطب)، وزرعت في حوض زجاجي سعة 3 لترات يحتوي على وسط مستخلص التربة المعقم المحضر كالاتي: أخذ 500 غرام تربة زراعية (من عمق 10 سم) وأخضعت لعملية غرلة باستعمال جهاز Cisa-BA200A واستمرت العملية ساعة كاملة للحصول على حبيبات تربة بحجم 63 ميكرومتراً، كما تم التحري عن وجود الكوبالت باستعمال جهاز الامتصاص الذري SpectrAA-880 بطريقة اللهب، مصدر الطاقة الإستيلين بمعدل تدفق 2.2 لتر/دقيقة، طول موجة الكشف 240.7 نانومتراً (Ghaedi et al., 2008, 536). أضيف لعينة التربة السابقة لتر واحد ماء مقطراً، تركت ضمن الهزاز حتى ضمان الحصول على مزيج متجانس، ومن أجل الحصول على مستخلص للتربة جرى الترشيح باستعمال ورق الترشيح على مرحلتين، وأجريت عملية تعقيم للمستخلص على درجة حرارة 121 م° مدة 20 دقيقة، وترك المستخلص حتى يبرد على درجة حرارة الغرفة، ثم حُضر وسط مستخلص التربة كالاتي: ماء مقطر 900 مل، مستخلص تربة 100 مل، نترات البوتاسيوم 200 ملغ، فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين 20 ملغ، كبريتات المغنيزيوم المائية 20 ملغ (Belcher and Swale, 1982, 15). وطبقت الظروف المخبرية المذكورة أعلاه نفسها في أثناء إكثار الطحلب ضمن هذا الوسط .

### 1-3- وسط (BBM)Bolds Basal Medium:

يبين الجدول 4 التركيب الكيميائي لوسط BBM المستعمل في التجربة، والموجود في مختبرات قسم علم الحياة النباتية من كلية العلوم بجامعة دمشق.

الجدول 4. التركيب الكيميائي لوسط BBM

| المكون                            | الكمية    | المكون                                                                                                                           | الكمية |
|-----------------------------------|-----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| نترات الصوديوم                    | 0.25 غ/ل  | محلول قلوي من EDTA 5% وهيدروكسيد البوتاسيوم 3.1 %                                                                                | 1 مل   |
| فوسفات الصوديوم أحادية الهيدروجين | 0.075 غ/ل | كبريتات الحديد المائي 0.498% + 2 نقطة حمض الكبريت                                                                                | 1 مل   |
| كبريتات المغنسيوم المائية         | 0.075 غ/ل | حمض البوريك 1.142 %                                                                                                              | 1 مل   |
| كلور الكالسيوم المائي             | 0.025 غ/ل | كبريتات الزنك المائي 0.882 % + كلوريد المغنسيوم المائي 0.144 % + كبريتات النحاس المائية 0.157 % + نترات الكوبالت المائية 0.049 % | 1 مل   |

|                                        |           |                 |           |
|----------------------------------------|-----------|-----------------|-----------|
| فُسفات البوتاسيوم<br>ثنائية الهيدروجين | 0.175 غ/ل | كلوريد الصوديوم | 0.025 غ/ل |
|----------------------------------------|-----------|-----------------|-----------|

التركيب الكيميائي بحسب (Andersen,2005,437)

كما طبّقت الظروف المخبرية المذكورة أعلاه نفسها في أثناء إكثار الطحلب ضمن هذا الوسط .

## 2 - تقدير معدل النمو

أجري تقدير نمو الطحالب المدروس باتباع الطرائق القياسية (Stein,1973) اعتماداً على قياس الكثافة الضوئية بالمطيافية الضوئية على طول موجة 650 نانومتراً، إذ عزلت الطحالب من وسط الزرع بطريقة التنقيط على سرعة 3000 دورة في الدقيقة مدة 30 دقيقة، لغرض تفكيك الخيوط إلى خلايا، وقد أهمل الراسب وأخذ السائل الطافي للقياس، مع مراعاة أن محلول الشاهد هو وسط الزرع (مياه الصرف الصحي المعقمة، مستخلص التربة، BBM) وحُسب معدل النمو وكان التعبير عنه بثابت النمو النسبي، وحُسب زمن التضاعف وفقاً للمعادلتين الموضوعتين من قبل (Huang et al.,2002,9):

$$K = \frac{\log OD_T - \log OD_0}{T} \times 3.322$$

$$G = \frac{0.301}{K}$$

حيث K: معدل النمو النسبي، خلية / ساعة.

$OD_T$ : الكثافة الضوئية عند نهاية التجربة .

$OD_0$ : الكثافة الضوئية عند بداية التجربة.

T: زمن التجربة .

G: زمن التضاعف

## 3- التحري عن تغير التركيب الكيميائي للطحالب النامية ضمن أوساط النمو المختلفة

قُدر المحتوى من الرطوبة، الرماد، الصباغ، الكربوهيدرات، البروتين، الدهن، والفينولات الكلية كما هو مذكور سابقاً، والفاعلية على كنس الجذور الحرة باستعمال اختبار DPPH\* بتركيز 10 ملغ/ مل لعديد السكاريد الخام وللقطافات وفقاً (Mezghani et al.,2013,2).

## ثالثاً. إكثار الطحالب ضمن الأحواض المفتوحة

كان إكثار طحالب الكلادوفورا ضمن الأحواض المفتوحة مع إمكانية التحكم في نسب N/P لغرض

إنتاج الكتلة الحيوية ( Ramaraj and Dussadee,2015,24) كما هو مبين في الجدول 5:

جدول 5. تصميم تجربة إكثار طحالب الكلادوفورا بطريقة الأحواض المفتوحة

| رقم المعاملة | فوسفات<br>ملغ/ل | نتروجين<br>ملغ/ل | رمز المعاملة |
|--------------|-----------------|------------------|--------------|
| 1            | 0.4             | 0.4              | M1           |
| 2            | 0.4             | 0.8              | M2           |
| 3            | 0.4             | 1.2              | M3           |
| 4            | 0.8             | 0.4              | N1           |
| 5            | 0.8             | 0.8              | N2           |
| 6            | 0.8             | 1.2              | N3           |
| 7            | 1.2             | 0.4              | O1           |
| 8            | 1.2             | 0.8              | O2           |
| 9            | 1.2             | 1.2              | O3           |
| الشاهد       | ماء مقطر        |                  | CO           |

المصدر الفوسفاتي هي فسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين مع التمييز بين نوعين من المصدر النتروجيني المعدني (نترات الصوديوم) والعضوي (مستخلص الخميرة)، وكذلك الأمر بين المعاملات الساكنة (من دون ضخ هواء) والمنشطة (مع ضخ هواء) خلال فصل الربيع، والصيف والخريف، ويوضح الشكل 6 طريقة إكثار طحالب الكلادوفورا بطريقة الأحواض المفتوحة.



الشكل 6. طريقة إكثار طحالب الكلادوفورا بطريقة الأحواض المفتوحة.

### 3-1- القياسات البيئية

أُجريت مراقبة تغير درجة حرارة الماء ضمن أحواض الإكثار خلال مواسم النمو الثلاثة، مع قياس شدة الإضاءة باستعمال جهاز Portable Lux Meter، وحساب مدتها.

### 3-2- تقدير معدل النمو

تم تقدير معدل النمو للطحالب النامية ضمن المعاملات المختلفة كما هو مذكور سابقاً.

### 3-3- تقدير المحتوى من الكربوهيدرات

تم التحري عن تأثير المعاملات المختلفة وفصل النمو على محتوى الكربوهيدرات وفقاً لطريقة Dubois كما هو مذكور سابقاً.

### رابعاً. استخلاص عديد السكاريد

#### 4-1- أمثلة استخلاص عديد السكاريد من طحلب *Cladophora* بتقنية الأمواج فوق الصوتية

استخلص عديد السكاريد من الطحلب بتقنية الأمواج فوق الصوتية في مختبر الكيمياء الفيزيائية بقسم الكيمياء -كلية العلوم- بجامعة دمشق، وفقاً للطرائق المرجعية (Esmaili et al., 2021,3, Champa et al., 2016, 2393)، بالاشتراك مع طريقة الاستخلاص المتعاقب (Song et al., 2018,8)، بهدف الحصول على مردود عالي النقاوة، وتتلخص الطريقة باختصار كالآتي: يوضع مزيج من مجموعة مذيبات متباينة القطبية (الماء المقطر، إيثانول 70%، متانول 70%، أستون 70%) ومسحوق الطحلب الجاف بالنسب الآتية: 1:20، 1:30، 1:40 مل/غ ضمن حمام الأمواج فوق الصوتية (Ultrasonic Cleaner model: ps-60ar, jeken, 360 w, 40khz-China)، وتم الاستخلاص بدرجة حرارة 40، 60، 80 °م وبزمن 30، 75، 120 دقيقة على الترتيب، وبعد إنجاز كل معاملة من معاملات الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية أُجري الاستخلاص المتعاقب بتطبيق عملية التثقيب 5000 د/د مدة 10 د، ثم جمع الجزء الطافي وأُجري ترسيب لعديد السكاريد على هيئة كُريات Pellets بإضافة ثلاثة أحجام من الإيثانول المطلق، وإعادة إذابة الكرات بالماء المقطر ونزع محتواها من الدهون بإضافة مزيج من الأسيتون: والكلوروفورم (1:3 حجم / حجم)، أما المحتوى البروتيني فكان التخلص منه عن طريق إضافة عامل Sevag المكون من كلوروفورم: ن - بوتانول (4:1 حجم/ حجم). أُخضع المزيج بعد ذلك لعملية تنفيل 4000 د/د مدة 15 دقيقة، وجرى التخلص من الجزء البروتيني ذي اللون الكريمي، أما الجزء الرائق فقد أخذ إلى حقيبة الديلزة مدة 48 ساعة، ورُسب عديد السكاريد بإضافة 3 أحجام من الإيثانول النقي، وجرى تحويل المردود من عديدات السكاريد الناتج عن المستخلص المائي إلى الهيئة الصلبة بتطبيق التثقيب تحت التجميد (5000 د/د، 30. د، -20 °م)، في حين أن عديد السكاريد الناتج عن بقية المذيبات؛ تم جمع عديد السكاريد وجفف بالمبخر الدوار (60 °م، 110 د/د)، ثم استعملت الحاضنة الهزازة لتجفيف المردود حتى 10 % محتوى مائي في كلا الطريقتين.

حُسب المردود من عملية الاستخلاص كالآتي:

المردود من عديد السكاريد % = وزن عديد السكاريد / وزن الطحلب  $\times 100$

#### 4-2- أمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي باستعمال منهجية سطح الاستجابة

يُستعمل هذا النموذج في شرح تأثير العوامل المستقلة والتأثير التفاعلي لكل عامل متغير (Cui et al., 2018, 3; Song et al., 2018, 11; 2018, 11)، ووفقاً لتصميم بوكس - بنكن فقد حُدِّدت ثلاثة عوامل مؤثرة في المردود وهي نسبة الماء إلى مسحوق الطحلب الجاف  $X_1$ ، درجة حرارة الاستخلاص  $X_2$  وزمن الاستخلاص  $X_3$  إذ أُعطيت ثلاث قيم لكل عامل (Box and Behnken, 1960, 457) لكل مذيب استخلاص كل على حدة، كما هو مبين في الجدول 6، وبالنتيجة فإن المردود يعد كاستجابة لتأثير مجموعة المتغيرات المستقلة (Zou et al., 2011, 504).

الجدول 6. القيم والعوامل التجريبية لتصميم بوكس - بنكن (BBD).

| القيم  |        |        | العوامل المؤثرة                  |
|--------|--------|--------|----------------------------------|
| 1      | 0      | 1-     |                                  |
| 1 : 40 | 1 : 30 | 1 : 20 | المعدل، مل / غ                   |
| 80     | 60     | 40     | درجة حرارة الاستخلاص، درجة مئوية |
| 120    | 75     | 30     | زمن الاستخلاص، دقيقة             |

(Box and Behnken, 1960, 462).

#### 4-3- التحاليل الكيميائية لعدد السكاريد الكبريتي

أُجري تقدير السكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي باستعمال طريقة فينول حمض الكبريت وفقاً لطريقة دوبويس (Dubois et al., 1956, 351)، وتقدير المحتوى من مجموعة السلفهيدريل ( $\text{SO}_3\text{H}$ ) بطريقة هلام كلوريد الباريوم (Sakthivel and Devi, 2015, 69).

#### 4-4 - تنقية عديد السكاريد الكبريتي

أُجريت تنقية عديد السكاريد الكبريتي وفقاً لطريقة (Pier et al., 1978, 908-909)، مع بعض التعديلات؛ بإذابة 0.5 غ من عديد السكاريد الكبريتي في 100 مل من الطور المتحرك (المحلول الفوسفاتي الموقى)، والمكون من 6.8 غ كلوريد الصوديوم و 1.48 غ فوسفات الصوديوم أحادي الهيدروجين و 0.43 غ فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين في لتر واحد من الماء المقطر مع مراعاة ضبط pH على القيمة 7. بعد مزج عديد السكاريد مع المحلول الموقى أخذ من المزيج 3 مل وحمل على عمود الفصل الهلامي الكروماتوغرافي Sephadex gel G- 100 (قطر العمود 2.5 X طوله 20 سم) بمعدل تدفق للطور المتحرك 1 مل/دقيقة وحجم الأجزاء المفصولة (القطعة) 700 ميكرو لتر، حدد المحتوى من السكريات الكلية للقطعات، ثم جمعت القطعات وجففت حتى محتوى مائي 10%.

#### 4-5 - تحديد المجاميع الفعالة في القطفات بالأشعة تحت الحمراء القريبة

استعملت الأشعة تحت الحمراء للكشف عن المجاميع الفعالة مع إمكان تمييز الأخيرة بوساطة الطول الموجي Wave number ونمط التردد الاهتزازي الذي يكون إما على شكله المط stretching أو الانحنائي bending، وفي كلتا الحالتين يكون هذا التردد الاهتزازي متناظراً symmetric أو غير متناظراً asymmetric وفي هذا السياق؛ عُمِل على مزج 2 ملغ من كل قطعة (Fraction) جافة مع بروميد البوتاسيوم ووضعت في محفظة على هيئة أقراص بثخانة 1 مم، وفحصت بالأشعة تحت الحمراء القريبة باستعمال جهاز FT-IR-4200 type A-C077661018 بهدف تحديد المجموعات الفعالة (Song et al., 2018, 5).

#### 4-6 - تحديد المكونات الكيميائية للقطفات وخواصها المضادة للتأكسد

جرى تقدير المحتوى من السكريات الكلية الذوابة وفقاً لطريقة (Dubois et al., 1956, 351)، أما المحتوى البروتيني فقد قدر بحسب طريقة لوري (Slocombe et al., 2013, 52)، والمحتوى من مجموعة السلفهيدريل وفقاً لطريقة ساكنيفيل وديفي (Sakthivel and Devi, 2015, 69)، والفاعلية على كنس الجذور الحرة باستعمال اختبار DPPH<sup>\*</sup> و ABTS<sup>++</sup> بتركيز 10 ملغ/مل لعدد السكاريد الخام وللقطفات وفقاً لميزغاني وزملائه (Mezghani et al., 2013, 2).

#### 4-7 - تحديد السكريات البسيطة

من أجل تقدير الوحدات السكرية البسيطة المكونة لعدد السكاريد وللقطفات الناتجة عن التنقية بهلام الترشيح لادب من إجراء حلمهة له باستعمال حمض الكبريت وفقاً لطريقة (Cui et al., 2018, 11)، وحُدِدت السكريات البسيطة باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC وفقاً لطريقة (Panahi, 2008, 56)؛ إذ لقحت ألواح السيليكا بـ 2% حمض بوريك في مزيج حجم إيتانول : حجم ماء)، الطور المتحرك هو ن-بوتانول : خلات الإيثيل : 1 مول حمض البوريك بالنسب 70 : 15 : 15، عامل الإظهار هو محلول حمض الكبريت 15% المذاب في المتانول 50% وتم الكشف بمساعدة الأشعة فوق البنفسجية على طول موجي 254 نانومتراً.

كما حُدِدت السكريات البسيطة باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC باستعمال طريقة Xu مع بعض التعديل وهي باختصار العمود NH<sub>2</sub> (250 \* 4.40 مم)، درجة حرارة العمود والكاشف 30 م°، الطور المتحرك الأسيتونتريل: الماء 15:85 معدل التدفق 1 مل/د، حجم الحقنة 20 ميكرو لتر، المحاليل العيارية للسكريات البسيطة تم الحصول عليها من شركة Sigma، وحضرت بتركيز 0.5-50 ملغ/مل، وجرى حقنها باللفتر 0.45 ميكرون (Xu et al., 2015, 550).

## خامساً. الخواص الفيزيائية لعدد السكاريد

## 5-1- قياس اللزوجة النسبية

حضرت تراكيز مختلفة من عديدات السكاريد المستخلصة من المعاملات المختلفة وقيست اللزوجة النسبية على درجات حرارة مختلفة تتراوح من 20 - 50 م°، باستعمال أنبوبة أويل هود. وحسبت اللزوجة النسبية من العلاقة:

$$\frac{t}{t_0} = \text{اللزوجة النسبية}$$

(1) t: الزمن المستغرق لانسياب الكمية نفسها من المحلول ذي التركيز c

(2) t<sub>0</sub> : الزمن المستغرق لانسياب كمية معينة من المذيب (Sariyerli et al., 2018, 2).

## 5-2- تحديد قرينة الانكسار (قياس الكثافة النوعية للسوائل)

حضرت تراكيز مختلفة من عديدات السكاريد المستخلصة من المعاملات المختلفة وقيست قرينة الانكسار على درجات حرارة مختلفة تتراوح من 20 - 50 م° باستعمال جهاز آب رفرأكتور متر نوع A.KRUSS optronic ألماني الصنع كما هو مذكور من قبل (العبادي والجبوري، 2013، 747).

## 5-3- تحديد نقطة الانصهار

أخذ 2 ملغ من عديدات السكاريد المستخلصة من المعاملات المختلفة ووضعت أنابيب شعرية خاصة بالجهاز، ثم وضعت ضمن جهاز تقدير الانصهار Stuart, smp30, melting point، وقد عمل على رفع درجة حرارة الجهاز تدريجياً بمقدار 1 درجة مئوية كل 1 دقيقة كما هو مذكور من قبل (Zayed et al., 2016, 4).

## 5-4- تحديد الدوران البصري النوعي (القطبية)

استعمل لهذا الغرض جهاز البولاريمتر وهو جهاز يعمل على قياس دوران مستوى الضوء المستقطب (أي قياس الزاوية التي يدور فيها الضوء المستقطب)، في فترة مروره خلال عينة من المركب الذي يمتلك خاصية النشاط الضوئي، إذ جرى إعداد تراكيز مختلفة من عديدات السكاريد المستخلصة من المعاملات المختلفة وأجريت القياسات باستعمال جهاز الدوران البصري Bellingham Stenlay Limited إنكليزي الصنع وعلى درجة حرارة الغرفة 25 م°، بوجود ضوء الصوديوم بطول موجي 5890-5896 أنغستروم، كما هو مذكور من قبل (Zayed et al., 2016, 5).

## سادساً. الإختبارات الميكروبيولوجية

## 6-1- التحري عن وجود السموم (Toxins)

هدف هذا الاختبار إلى الكشف عن وجود تلوث عديد السكاريد الكبريتي بالسموم المفترزة من بعض الفطريات العائدة لبعض أجناس *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus flavus* باستعمال طريقة التغير اللوني لوسط النمو بعد تعريضه لبخار الأمونيا. إذ جرت زراعة المحلول المائي لعديد السكاريد الكبريتي ضمن وسط Potato dextrose agar وبعد فترة الحضانة أخذ 0.2 مل من محلول الأمونيا 25% ووضع على غطاء طبق بتري، ووضع الطبق بالمقلوب ضمن الحاضنة على درجة حرارة 25 م° مدة 48 ساعة، وجرت مراقبة تغير لون المستعمرة وفقاً لطريقة (Saito and Machida, 1999, 206).

## 6-2- تحديد خواص عديدات السكاريد الكبريتية المضادة للبكتريا

## أ. تجهيز العزلات البكتيرية

أجري التحري عن خواص عديد السكاريد الكبريتي الخام والمنقى كمضاد للبكتريا، تجاه بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* والجمرة الخبيثة *Bacillus anthracis* إيجابية الغرام، والأمعائية المرباحة *Enterobacter aerogenes* و الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* سلبية الغرام، وتم الحصول على الأنواع البكتيرية من مختبر الأحياء الدقيقة في قسم علم الحياة النباتية؛ إذ استعمل دليل Bergey في تشخيص هذه البكتريا (1977، 120، 186)، واستُزعت على وسط الآغار المغذي في درجة حرارة 37 م° مدة 24 ساعة، ثم بالإبرة المعقمة أُخذ من النمو البكتري إلى أنبوب معقم يحتوي 5 مل من المرق المغذي وحضنت في حرارة 37 م° مدة 4 ساعات ضمن الحاضنة الهزازة و بسرعة 100 دورة/ دقيقة (Rodrigo *et al.*, 2022, 5).

## ب. تحضير المعلق البكتري

حُضِر المعلق البكتري باستعمال المحلول الفيزيولوجي الملحي (0.85% كلوريد الصوديوم) وضبطت كثافة المعلق بجهاز قياس الكثافة الضوئية ماكفرلند الخاص (600 نانومتراً) بهذا الغرض إلى 0.5 ماكفرلند الذي يكافئ  $1 \times 10^8$  خلية/مل تبعه إجراء التخفيفات العشرية لحين الحصول على تركيز  $10^5$  خلية/مل، وجرى تلقيح المعلق البكتري ضمن الأطباق الحاوية على وسط مولر هنتون آغار (Berri *et al.*, 2016, 6).

## ت. اختبار الحساسية تجاه البكتريا

أخذ 50 ميكرولتراً من كل معلق بكتيري ولقحت الأطباق الحاوية على وسط مولر هنتون آغار به، وحفرت آبار ضمن الأطباق التي تحتوي على وسط الحساسية مولر هنتون آغار والملقحة بالعزلات البكتيرية (Alhajal *et al.*, 2021, 406)، نفذ الاختبار ضمن حجرة العزل البكتيرية وحفرت الآبار باستعمال المثقب رقم 3 (Drill bit)؛ وملء كل بئر بمقدار 50 ميكرولتراً من كل عديد سكاريد طحلي منقى (Fraction) على تراكيز من 20 حتى 50 ملغ/مل، واستعمل المضاد البكتري Ceftriaxone وبتراكيز 0.45% كشاهد إيجابي واستعمل الماء وبقيت المذيبيات كشاهد سلبي، بعدها وضعت الأطباق في البراد مدة ساعة واحدة لضمان

عملية التشرب المتجانس، ثم نقلت إلى الحاضنة مدة 24 ساعة وبدرجة حرارة 37 م°، وحُسب قطر التثبيط وحددت قيم أقل تركيز مثبط للبكتريا Minimum Inhibition Concentration (MIC) بطريقة تخفيف الأغار Dilution agar حسب الطريقة المذكورة من قبل زُوجي (Zouaghi *et al.*, 2021,43).

#### سابعاً. التحري عن الخواص الريولوجية للعجين نتيجة إضافة عديد السكاريد الكبريتي

استعمل دقيق القمح القاسي ذو نسبة الاستخراج 72% تم الحصول عليه من مطحنة الفرات، وجرى التحري عن تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي (بنسبة إضافته إلى دقيق الدقمح 0.5 %، 1 %، 1.5 %) في الخواص الريولوجية للعجين باستعمال جهاز الفارينوغراف (Brabender OHG, Duisburg, Germany) اعتماداً على الطريقة المعتمدة من قبل AACC رقم 54-21 لعام (2000، 26)، كما حُدد تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي (كما في النسب المذكورة سابقاً) في مرونة ومطاطية للعجين باستعمال جهاز الإكستنسوغراف اعتماداً على الطريقة المعتمدة من قبل AACC رقم 54-10 لعام (2000، 41) في مخبر بحوث سبينة التابع للمؤسسة العامة للحبوب - سورية.

#### ثامناً. تحضير البسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي

##### 8-1- تصنيع البسكويت

أجري تحضير البسكويت باستعمال 46.5% دقيق القمح 23 % سكر، 20% زبدة، 10% ماء، 0.5% كربونات الصوديوم الهيدروجينية (Baking powder) يضاف عديد السكاريد الكبريتي بمعدل 0.5%، 1%، 1.5% (وزن/وزن)، مع مراعاة عمل شاهد من دون أي إضافة، درجة حرارة الخبز 125 م° مدة 35 دقيقة، وأعطى التسمية Sps Biscuit عليه، تعبأ عينات البسكويت في أكياس بلاستيكية مغلقة وتحفظ على درجة حرارة الغرفة وبعيداً عن أشعة الشمس (Abd El Baky *et al.*, 2015, 237).

##### 8-2- التحاليل الكيميائية والفيزيائية للبسكويت

**تقدير البروتين:** استعملت طريقة كداهل لغرض تقدير النتروجين، وحسبت نسبة البروتين بضرب نسبة النتروجين بعامل التحويل 5.7 بحسب الطريقة الموصوفة (AOAC,2008,33).

**تقدير السكريات الذوابة:** تم بالطرائق اللونية (فينول - حمض الكبريت) حسب طريقة (AOAC,2008,42).

**تقدير الرطوبة:** حسبت نسبة الرطوبة عن طريق فرق الوزن قبل وبعد التجفيف الحراري على درجة حرارة 105 م° بحسب الطريقة الموضوعة (AOAC,2008,12).

##### تقدير الأس الهيدروجيني pH:

يخلط 5 غ من مسحوق البسكويت مع 50 مل من الماء المقطر في خلاط كهربائي مدة 10 دقائق ثم يرشح الخليط، وقدرت قيمة pH عن طريق جهاز pH Meter (Orion Model 420A) أمريكي الصنع، AOAC, (2008,9).

##### تعيين مؤشرات اللون (L,a,b):

باستعمال جهاز hunter lab بحسب مذكره (Bilgicli and Levent, 2014,268).

### 8-3- التقييم الحسي للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي

جرى تقييم الخواص الحسية للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي من قبل بعض الأساتذة والباحثين في جامعة دمشق الذكور والإناث وفقاً للطريقة الموصوفة (Larmond, 1991,17) مع بعض التعديلات، باستعمال طريقة المقياس ذي النقاط التسع، وأعطيت كل معاملة رمزاً محدداً، إذ شرب كل محكم كأساً من الماء المقطر بين كل عينة وأخرى مع الأخذ بالحسبان أن الاختبار جرى في الزمن نفسه لجميع المحكمين وفي ظروف الإضاءة والتهوية نفسها، وجرى تقييم الشكل العام، الطعم، اللون، الرائحة، القوام، درجة الهشاشة والاستساغة وعُدت القيم من 1 حتى 5 مرفوضة وكانت القيم 6 : مقبول، 7: جيد، 8 : جيد جداً، 9 : ممتاز.

### 8-4- التحري عن الفاعلية المضادة للتأكسد للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي

أخذ 0.2 غرام من كل عينة من عينات البسكويت ومزج بمقدار 1.5 مل من الماء ثنائي التقطير بمساعدة المحرك المغناطيسي وعلى درجة حرارة استخلاص 45 م° مدة 5 دقائق، بعد ذلك وضع المزيج على درجة حرارة 4 م° مدة نصف ساعة تلاها إجراء عملية تثقيب على سرعة 5400 د/د مدة 10 د، جرى ترشيح المزيج وجمع الجزء الطافي في حين أعيد استخلاص الراسب بالظروف نفسها المذكورة سابقاً (Conforti and Patrignani, 2021, 246)، في النهاية جمع الجزء الطافي الأول والثاني وأخضع لتقدير الفاعلية المضادة للتأكسد خلال مدة خزن البسكويت مدة شهر.

#### أ - المقدرة على كنس الجذور الحرة اعتماداً على اختبار DPPH<sup>•</sup>

حُضرت العينة بأخذ 2 مل من مستخلص كل عينة، وأضيف إلى 2 مل من محلول DPPH<sup>•</sup> بتركيز قدره 0.1 ميلي مول (3.94 ملغ في 100 مل متانول). حضن المزيج على درجة حرارة الغرفة مدة نصف ساعة في الظلام وجرى قياس الامتصاصية على طول موجي على 517 نانومتراً، وحضر محلول المقارنة (الكنترول) وهو 1 مل محلول DPPH<sup>•</sup> + 1 مل متانول في الظروف السابقة نفسها، تم تصفير الجهاز بوساطة البلانك Blank وهو المتانول، واستعمل حمض الأسكوربيك بتركيز مختلفة كمحلول للمقارنة الإيجابية. حُدد التركيز الذي يضمن تثبيط 50% من الجذور الحرة.

النسبة المئوية لكنس الجذور الحرة اعتماداً على اختبار

$$\text{DPPH}^{\bullet} \% = \frac{\text{Abs} - \text{Abs (للعينة)}}{\text{Abs (للشاهد)}} \times 100$$

Abs: الامتصاصية عند طول موجي 517 نانومتراً.

حُدثت قيم IC<sub>50</sub> التركيز الذي يضمن تثبيط 50% من الجذور الحرة (Sun et al., 2014, 2).

#### ب - المقدرة على كنس الجذور الحرة اعتماداً على اختبار ABTS<sup>•+</sup>

حُضر 7 ميلي مول من مركب ABTS<sup>•+</sup> (0.0364 غ مذاب في 10 مل ماء ثنائي التقطير محمض بـ 20 ميلي مول اسيتات الصوديوم وضبط PH على 4.5 باستعمال حمض كلور الماء)، أضيف إليه أمونيوم بيرسلفات على تركيز 2.45 ميلي مول (5.59 ملغ أمونيوم بيرسلفات في 10 مل ماء مقطر)، وحُضن هذا

المزيج مدة 16 ساعة على درجة حرارة الغرفة 26 م° وفي الظلام، بعد ذلك؛ تم تمديد ذلك المحلول بمحلول الفوسفاتي الموقى وحضن مدة 6 دقائق، بعدها جرى القياس عند طول الموجة 734 نانومتراً واستمر التمديد بحذر حتى الحصول على امتصاص ضوئي 0.70 عند طول الموجة 734 نانومتراً.

أضيف 10 ميكرولترات من كل مستخلص إلى 1 مل من محلول ABTS<sup>++</sup> وحضن مدة 6 دقائق بعدها جرى القياس عند طول الموجة 734 نانومتراً. وحضر محلول المقارنة (الشاهد) هو 1 مل محلول ABTS<sup>++</sup> الممدد، تم تصفير الجهاز بوساطة البلاك Blank وهو المحلول الفوسفاتي الموقى، واستعمل الترولوكس بتركيز مختلفة كمحلول للمقارنة الإيجابية.

النسبة المئوية لكنس الجذور الحرة اعتماداً على اختبار ABTS<sup>++</sup> % = [Abs للكنترول - Abs للعينة] / Abs للكنترول X 100 .

Abs: الامتصاصية عند طول موجي 734 نانومتراً.

حُدثت قيم IC<sub>50</sub> التركيز الذي يضمن تثبيط 50% من الجذور الحرة (Nitha et al., 2010,455).

#### تاسعاً. التحليل الإحصائي

أُجريت كافة التحاليل الإحصائية كافة باستعمال برنامج التحليل الإحصائي SPSS الإصدار العشرين، واستُعمل اختبار تحليل التباين الأحادي والثاني والثلاثي لغرض إيجاد الفروق المعنوية بين المعاملات المختلفة عند مستوى معنوية 1%. ونفذت كل الاختبارات بواقع ثلاثة مكررات، وكان التعبير عن النتائج بالقيمة المتوسطة مع انحرافها المعياري، كما وضعت معادلات الانحدار الخطي البسيط للقيم المدروسة، إذ تم التمييز بين العوامل المستقلة (درجة حرارة، نسبة النتروجين إلى الفوسفات، شدة إضاءة، مدة إضاءة) وبين العوامل التابعة (المحتوى الكربوهيدراتي، البروتيني، الدهن، الرطوبة الرماد)، وحسبت معاملات الارتباط والتحديد. أنجزت منهجية سطح الاستجابة باستعمال برنامج Minitab الإصدار السابع عشر.

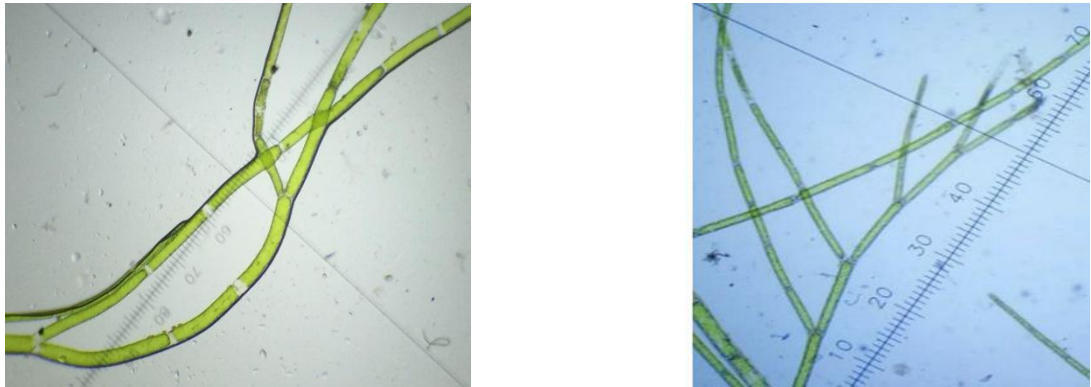
## الفصل الثالث

### النتائج والمناقشة

### Results and Discussion

### 3-1- الوصف المورفولوجي

كان مظهر طحلب الكلادوفورا بشكل خيطي، متجمعة بشكل مستعمرات، ملتصقة بشكل طرفي، ذات لون أخضر، وأمكن تمييز نوعين من طحلب الكلادوفورا هما: *C. crispata* و *C. fracta*، واتسم طحلب *C. fracta* بملمس ناعم بشكل أكثر من طحلب *C. crispata*، والذي جرى تصنيفه وفقاً لدراسة (Prescott, 1970, 137)، وهو جنس *Cladophora* سهل التشخيص وجرت العادة على استعمال المجهر الضوئي من أجل تصنيفه (Pankiewicz et al., 2016, 349، Khuram et al., 2014, 332)، من خلال الشكل 7 لوحظ أن طحلب *C. crispata* كان متعدد الخلايا ومتفرعاً تفريعات متعاقبة، خلاياه أسطوانية الشكل، طول الخلية بحدود 70 ميكرومتر، والفروع الجانبية أصغر حجماً من المحور، وظهر النوع *C. fracta* بمظهر خيطي متعدد الخلايا ذي تفرع قليل جداً وبشكل غير منتظم، طول الخلية أكبر من النوع السابق ويصل إلى حدود 425 ميكرومتر، له تفريعات متعاقبة وخلاياه أسطوانية ومتطاولة. وفي كلا النوعين كانت الصانعات الخضراء ذات مظهر شبكي، جدارية الموقع، محاطة بطبقتين من الأغشية، ولقد تطابقت هذه النتائج مع دراسة سابقة (Athbi et al., 2012, 31) والأسدي والعوادي، 2012، 60؛ حميد وآخرون، 2014، 19). هذا ويتوضع في محيط الصانعات الخضراء حبيبات البايرينويد و تحتوي الصانعات الخضراء على الحشوة أو ما يسمى Strome والتي تضم الأصبغة و الأحماض النووية والبذيرات Granum المحاطة بأغشية Thylakoid، حيث يستعمل لهذا الغرض المجهر الإلكتروني الماسح SEM (Pikosz et al., 2019, 317).



شكل 7 . مظهر طحلب الكلادوفورا تحت المجهر: (أ) كرسباتا ؛ (ب) فركتا، على قوة تكبير X10.

### 3-2- نتائج الدراسة الحقلية (ضمن الأنهار)

#### 3-2-1- التغيرات المناخية، التركيب الشاردي لمياه الأنهار في موسم الازدهار والإجهاد

وصل متوسط درجات الحرارة لفصل الصيف حتى 35 °م في منطقة حوض نهر بردى، أما متوسط درجات الحرارة العظمى لفصل الخريف فكان أعلى ما يمكن 26.6 °م في منطقة النهر الكبير الشمالي (الجدول 7).

الجدول 7. البيانات المناخية لمواقع الدراسة حيث جُمعت طحالب الكلاذوفورا

| الموقع<br>الجغرافي | دمشق<br>بردى       | دمشق<br>سردى       | ريف دمشق<br>الأعوج | ريف اللاذقية<br>الكبير الشمالي |
|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|
| النوع              | <i>C. crispata</i> | <i>C. crispata</i> | <i>C. frakta</i>   | <i>C. frakta</i>               |
| الفصل              | صيف                | خريف               | صيف                | خريف                           |
| t m                | 25±0.8<br>d        | 35±2<br>a          | 22±0.8<br>e        | 29±0.8<br>c                    |
| p m                | 13.23±1.1<br>b     | 14.30±1.3<br>a     | 13.23±1.2<br>b     | 14.30±1.2<br>a                 |
| dl m               | 600±40<br>e        | 790± 81<br>c       | 638±40<br>d        | 810±141<br>b                   |

t m: متوسط درجة الحرارة العظمى (م)، p m: متوسط عدد ساعات الإضاءة باليوم (ساعة)، dl m: شدة الإضاءة (لوكس X 100).  
a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن العمود نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

وكانت متوسطات مدة الإضاءة ضمن الحدود الطبيعية، في حين كانت شدة الإضاءة مرتفعة، كما هو مبين في الجدول 8. ومن خلال الجدول 8 يلاحظ أن تركيب المياه الشاردي لنهر بردى كان خارج القيم المقبولة للموصفة القياسية السورية لعام 2007 رقم 45 الخاصة بمياه الشرب (ماعدا قيم النحاس)، مع شذوذ في قيم النتريت والأمونيا في النهر الكبير الشمالي (الموصفة القياسية السورية 2007، 45، 1-22).

الجدول 8. التركيب الشاردي لمياه الأنهار خلال مدة الدراسة حيث جُمعت طحالب الكلاذوفورا

| الموقع                  | دمشق<br>بردى       | دمشق<br>سردى       | ريف دمشق<br>الأعوج | ريف اللاذقية<br>الكبير الشمالي |
|-------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------------------|
| النوع                   | <i>C. crispata</i> | <i>C. crispata</i> | <i>C. frakta</i>   | <i>C. frakta</i>               |
| الفصل                   | صيف                | خريف               | صيف                | خريف                           |
| pH                      | 8.0±0.08<br>c      | 8.6±0.16<br>a      | 7.8±0.14<br>d      | 8.3±0.2<br>b                   |
| نحاس<br>ميكروغرام<br>/ل | 27±0.001<br>d      | 22±0.001<br>d      | 50±0.002<br>ab     | 37±0.001<br>cd                 |
| نتريت<br>ملغ/ل          | 27±1.6<br>a        | 22±1.6<br>a        | 0.2±0.08<br>cd     | 0.3±0.14<br>bc                 |

|                 |               |                |               |                |                 |                 |                 |                 |
|-----------------|---------------|----------------|---------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| نترات<br>ملغ/ل  | 38±1.6<br>a   | 29±1.6<br>a    | 14±0.81<br>b  | 8±0.4<br>b     | 13±0.81<br>b    | 9±0.41<br>b     | 15.2±0.81<br>b  | 11±0.4<br>b     |
| أمونيا<br>ملغ/ل | 0.9±0.14<br>a | 0.64±0.16<br>b | 0.5±0.14<br>b | 0.2±0.08<br>de | 0.3±0.08<br>cd  | 0.1±0.08<br>e   | 0.6±0.14<br>b   | 0.3±0.08<br>cd  |
| فسفات<br>ملغ/ل  | 1.2±0.14<br>b | 1.8±0.14<br>a  | 0.2±0.08<br>c | 0.22±0.08<br>c | 0.124±0.08<br>c | 0.153±0.08<br>c | 0.136±0.08<br>c | 0.194±0.08<br>c |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.  
a,b,c,d

ويعزى ذلك لوجود المصبات الذي تصرف إليها المخلفات ذات الطبيعة والتركيز المختلف والتي تختلف باختلاف مواقع الأنهار المدروسة مثل صرف المسالخ والصرف الناتج عن الأنشطة السياحية والصناعية، مع ملاحظة أن ارتفاع قيم النترات والنترت والامونيا يعزى لوقوع المجرى والبرك ضمن الأراضي الزراعية واستعمال الأسمدة، وقد تطابقت هذه النتيجة مع حاج حسين وآخرين (2017، 80-81).

### 3-2-2- تأثير موسم الإجهاد الصيفي والإزدهار الخريفي في التركيب الكيميائي لطحالب النوعين *C. crispata* و *C. fracta*

يلاحظ من الجدول 9 تأثير فصل النمو في المحتوى المائي للطحالب. كما أثرت فترة الإجهاد الصيفي والإزدهار الخريفي على محتوى الرماد في الطحالب المدروسة، وتراوحت قيم الرماد للطحالب المدروسة 11-41% وهي أقل مما توصل إليه Muztar وآخرون (832، 1978)، إذ وصل المحتوى من الرماد إلى 44%، وتعد الطحالب بشكل عام ذات محتوى مرتفع من الرماد، حيث أخبرت دراسة قام بها Liu إلى أن محتوى الطحالب من الرماد تراوحت بين 1.9 حتى 37.4 % من الوزن الجاف لإثنا عشر نوع من الطحالب (Liu,2017,9)، يُشير المحتوى المرتفع للرماد ضمن الكتلة الحيوية للطحالب دليلاً على المحتوى المرتفع من العناصر المعدنية (El-swaify, 2017,15).

الجدول 9. نتائج تغير التركيب الكيميائي لطحالب النوعين *C. frakta* و *C. crispata* في فصلي الازدهار والإجهاد

| الموقع الجغرافي                          | دمشق - بردى        | دمشق - سردي        | ريف دمشق - الأعوج | ريف اللاذقية - الكبير الشمالي |             |             |             |               |
|------------------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|
| نوع الطحالب                              | <i>C. crispata</i> | <i>C. crispata</i> | <i>C. frakta</i>  | <i>C. frakta</i>              |             |             |             |               |
| الفصل                                    | خريف               | صيف                | خريف              | صيف                           | خريف        | صيف         | خريف        | صيف           |
| المكون الغذائي                           | خريف               | صيف                | خريف              | صيف                           | خريف        | صيف         | خريف        | صيف           |
| الرطوبة %                                | 5.7±0.01d          | 4.5±0.01e          | 6±0.004d          | 4±0.004e                      | 14±0.01b    | 12±0.01c    | 19±0.007a   | 13.2±0.004b   |
| الرماد %                                 | 18±0.003c          | 11±0.002g          | 16±0.002d         | 12±0.003f                     | 17±0.003e   | 16±0.003d   | 41±0.002a   | 30.5±0.003b   |
| اليخضور أ ميكروغرام / غ                  | 357.25±0.026c      | 298.45±0.003d      | 345±0.035c        | 306±0.015c                    | 304±0.030c  | 293±0.026d  | 963±0.012a  | 768±0.068b    |
| اليخضور ب ميكروغرام / غ                  | 290±0.003d         | 398.3±0.0026c      | 240±0.017d        | 402±0.024b                    | 320±0.013c  | 407±0.021b  | 384±0.007c  | 596±0.016a    |
| اليخضور الكلي ميكروغرام / غ              | 647.25 ±0.007c     | 696.77±0.007c      | 585±0.07d         | 708±0.06b                     | 623±0.011c  | 699±0.080c  | 1347±0.014a | 1364±0.084a   |
| الكاروتينات والكزانثوفيلات ميكروغرام / غ | 137.3±0.005c       | 191.9±0.005b       | 145±0.007         | 190.5±0.005b                  | 257±0.003a  | 190±0.006b  | 90±0.006d   | 120±0.002c    |
| الفينولات الكلية ميكروغرام / غ           | 3077±1.48a         | 2800±1.48b         | 3058±2.571a       | 2649±2.571b                   | 3041±1.48a  | 2433±2.571b | 276±0.003b  | 137.1±0.0069c |
| البروتين %                               | 25.57±0.69b        | 20.73±0.19e        | 27.29±0.69a       | 22.80±0.34d                   | 24.2±0.19c  | 17.9±0.34f  | 15.89±0.20g | 11.63±0.19h   |
| الدهن %                                  | 5.2±0.002d         | 12.8±0.001a        | 5±0.001d          | 10±0.002b                     | 4±0.001e    | 7±0.001c    | 3.18±0.031e | 5±0.05d       |
| الكربوهيدرات %                           | 45.38±0.21c        | 50.93±0.21a        | 45.63±0.37c       | 51.18±1.11a                   | 40.82±0.74d | 47.11±0.21b | 19.11±0.21f | 37.86±0.37e   |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

يوضح الجدول السابق وجود فروق بين المحتوى البروتيني للطحالب المدروسة في أثناء فترة الدراسة، إذ كانت النسبة الأعلى للبروتين في مرحلة الازدهار مقارنة بمرحلة الإجهاد الصيفي وذلك يتفق مع ( Celekli et al., 2016, 407-408)، وتراوحت قيم المحتوى البروتيني بين 11 - 27% إلا أنها أعلى من القيم التي أشارت إليها دراسات سابقة (Muztar et al., 1978, 832; Messyas et al., 2015, 1113; Celekli et al., 2016, 407-408)، وبالعودة إلى الجدول رقم 8 نلاحظ أن نسبة N:P كانت الأعلى في مرحلة الازدهار مقارنة بمرحلة الإجهاد، ومن ثم ساهمت في ارتفاع المحتوى البروتيني خلال مرحلة الازدهار وذلك يتفق مع

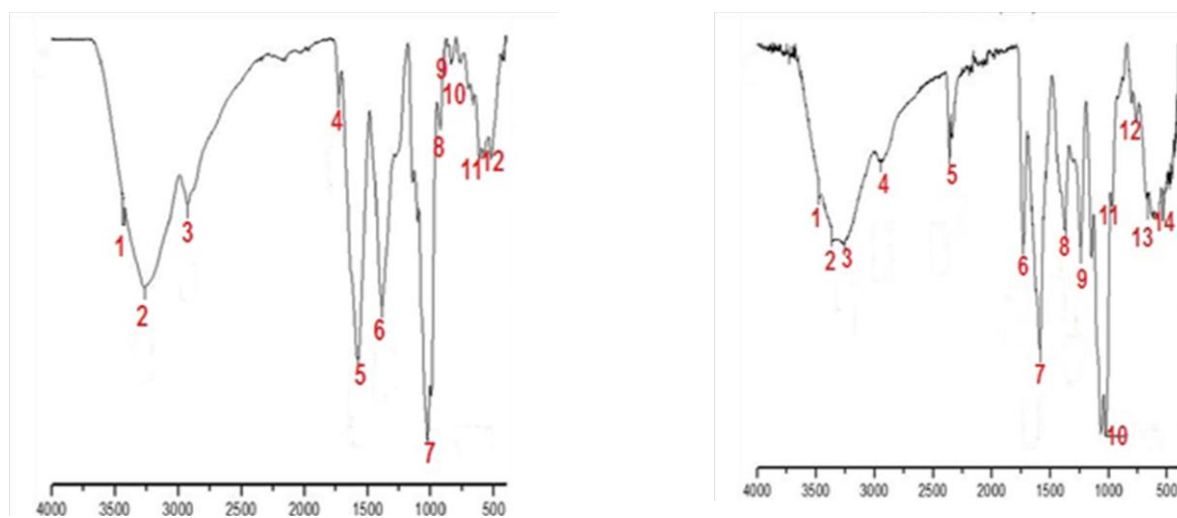
(Muztar et al., 1978, 832). ويتضح من الجدول 9 تباين قيم صباغ اليخضور والكاروتينات الكلية ضمن الكتلة الحيوية لطحالب الكلادوفورا النامية في الأنهار المختلفة، وتتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه كل من Celekli وآخرون (2016, 407)، Pikosz وآخرون (2019, 316) من حيث المنظور العام القائل بتباين قيم هذه الصباغ في موسمي الإجهاد والازدهار، إلا أن هذه النتائج هي أقل من القيم التي توصلوا إليها إذ تعزى الفروق في تكون الصباغ ضمن الكتلة الحيوية للطحالب المدروسة إلى اختلاف مدة الإضاءة وشدها خلال فترات النمو، وإلى تباين المحتوى الشاردي للمياه وبشكل خاص النترات. هذا ووجد Celekli وآخرون (2016, 407) علاقة ارتباط إيجابية بين المحتوى البروتيني والمحتوى من الصباغ.

وتبين النتائج بالجدول 9 وجود تأثير لتغير فصل النمو على المحتوى الكربوهيدراتي والدهني في الطحالب المدروسة، إذ كانت قيم المحتوى الكربوهيدراتي هي الأعلى خلال مرحلة الإجهاد الصيفي وذلك يتفق مع (Celekli et al., 2016, 407-408)، وكان لتغير تركيز الفوسفات والنترجين خلال فصلي النمو تأثير في نسبة المحتوى البروتيني والكربوهيدرات (Ruckert and Giani, 2004, 328) وبغض النظر عن مرحلة النمو كانت قيم المحتوى الكربوهيدراتي عند الطحالب المدروسة 19.11 - 51.18 %، وهي أعلى مما تحصل عليه Celekli، إلا أن الأخير عزى المحتوى المرتفع للكربوهيدرات ضمن الكتلة الحيوية للطحالب النامية في الأنهار إلى محتوى المياه العالي من المعادن. ويلاحظ من الجدول السابق أن قيم محتوى الدهن للطحالب المدروسة جاءت أيضاً مرتفعة خلال مرحلة الإجهاد الصيفي، وذلك يتفق مع دراسات سابقة، إلا أنها أعلى من قيم الدهن لطحلب الكلادوفورا في الشهر السابع والثامن والتاسع المدروسة سابقاً (Muztar et al., 1978, 832; Messyas et al., 2015, 1112). يظهر الجدول السابق تباين قيم الفينولات الكلية ضمن كتلة طحالب الكلادوفورا في أثناء فترتي الدراسة وذلك يتفق مع (Muzika et al., 1993, 3; Fabrowska et al., 2018, 73)، إذ إن قيم الفينولات الكلية أعلى مما حصل عليه Yarnpakdee وآخرون (2019, 213) عند دراسة طحلب *Cladophora glomerata* فكان محتواه من الفينولات الكلية 11 ميكروغرام/غ حمض غاليك، وأعلى مما تحصل عليه Pikosz وآخرون (2019, 316) عند دراسة طحلب *Cladophora fracta* فكان محتواه من الفينولات الكلية 1155 ميكروغرام/غ، ويعزى التباين في قيم الفينولات في فصلي النمو إلى اختلاف شدة الإضاءة (Greg and David, 2003, 38).

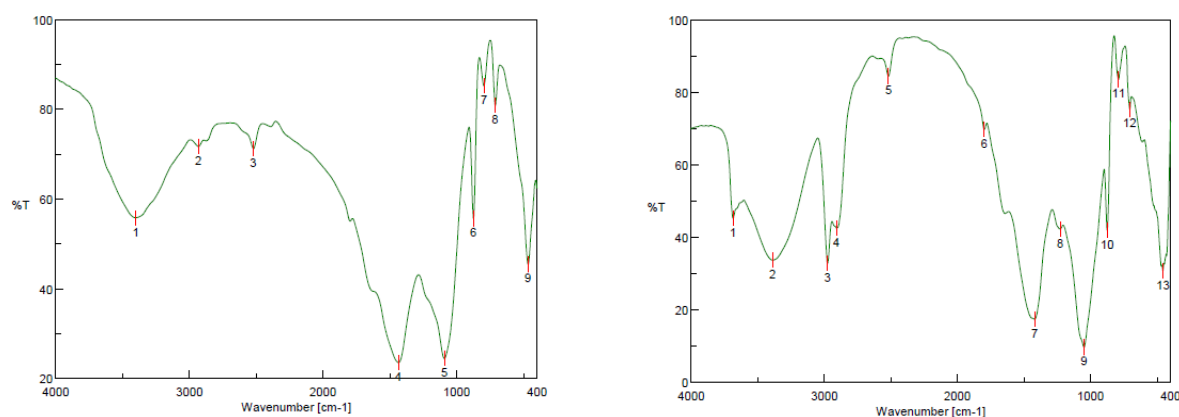
### 3-2-3 نتائج تحليل الكتلة الحيوية لطحالب النوعين *C. fracta* و *C. crispata* بطيف الأشعة تحت الحمراء القريبة في فصلي الازدهار والإجهاد

من خلال الشككين 8 و9 يُلاحظ تطابق طيف الأشعة تحت الحمراء في منطقة بصمة الأصبع Finger-print (450-500 سم<sup>-1</sup>) ما يؤكد أن هذه الأطياف هي للنوع الطحلي نفسه. فُسرَت أطياف الـ FTIR وفقاً لموسوعة

أطياف الأشعة تحت الحمراء للمركبات الكيميائية التي وضعها أبو المجد وعبد العليم (2011، 110-202). تشير نتائج تحليل الكتلة الحيوية للطحلب بطيف الأشعة تحت الحمراء إلى وجود اختلاف في طيف امتصاص الأشعة تحت الحمراء إذ ظهرت قمم طيفية في فصل الصيف ولم تظهر خلال فصل الخريف مثل طيف زمرة الكربونيل عند الطول الموجي 1799 سم<sup>-1</sup> ما يؤكد أن الظروف البيئية سببت تغيراً في التركيب الغذائي لطحالب النوع الواحد وهذا يتفق مع دراسة سابقة (Celekli et al., 2016, 411). وكذلك يتباين وجود المركبات الهيدروكربونية (الأليفاتية والأروماتية) ضمن الكتلة الحيوية لطحلب *Cladophora* المعزولة خلال فصول السنة (حميد وآخرون، 2014، 20). جرى بيان القمم الموجية وتفسيرها في الجداول 10 - 13.



الشكل 8. تحديد المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب *C. crispata* النامي خلال فترة الصيف إلى يمين الصورة وخلال فصل الخريف إلى يسار الصورة.



الشكل 9. تحديد المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب *C. fracta* النامي خلال فترة الصيف إلى يمين الصورة وخلال فصل الخريف إلى يسار الصورة.

الجدول 10 . المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب *C. crispata* النامي خلال فترة الصيف

| المجموعة الفعالة                                                         | الطول الموجي سم <sup>1-</sup> |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| N-H RNH <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> NH                                 | 3666                          |
| مجموعة OH الكحولية                                                       | 3400                          |
| C-H ألفاتي: التردد الماط غير المتماثل CH <sub>2</sub> أو CH <sub>3</sub> | 2976                          |
| مجموعة السلفهيدريل S-H الخاصة بالأمينات الأولية                          | 2400                          |
| C=O                                                                      | 1799                          |
| الأمين الأولي                                                            | 1600                          |
| C-C                                                                      | 1420                          |
| السلفات الخاصة بمجموعة الإستر                                            | 1230                          |
| C-O متأرجحة                                                              | 1049                          |
| حلقة البنزين                                                             | 909 - 650                     |
| اهتزاز متأرجح C-C                                                        | 875                           |
| انحناء متأرجح CH <sub>2</sub>                                            | 790                           |
| R <sub>2</sub> C=CHR                                                     | 705                           |
| اهتزاز انحناء C-C                                                        | 457                           |

الجدول 11. المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب *C. fracta* النامي خلال فترة الصيف

| المجموعة الفعالة                                                         | الطول الموجي سم <sup>1-</sup> |
|--------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| N-H RNH <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> NH                                 | 3686                          |
| مجموعة OH الكحولية                                                       | 3389                          |
| C-H ألفاتي: التردد الماط غير المتماثل CH <sub>2</sub> أو CH <sub>3</sub> | 2976                          |
| التردد الماط المتماثل CH <sub>2</sub> أو CH <sub>3</sub>                 | 2908                          |
| مجموعة السلفاهيدريد S-H الخاصة بالأمينات الأولية                         | 2518                          |
| C=O                                                                      | 1799                          |
| C-C                                                                      | 1420                          |
| السلفات الخاصة بمجموعة الإستر                                            | 1230                          |
| C-O متأرجحة                                                              | 1049                          |
| حلقة البنزين                                                             | 909 - 650                     |
| اهتزاز متأرجح C-C                                                        | 875                           |
| انحناء متأرجح CH <sub>2</sub>                                            | 790                           |
| R <sub>2</sub> C=CHR                                                     | 705                           |
| اهتزاز انحناء C-C                                                        | 457                           |

الجدول 12. المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب *C. crispata* النامي خلال فترة الخريف

| المجموعة الفعالة                                                      | الطول الموجي سم <sup>1-</sup> |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| N-H RNH <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> NH                              | 3500                          |
| مجموعة OH الكحولية                                                    | 3390                          |
| التردد الماط غير المتماثل للمجموعة CH <sub>2</sub> أو CH <sub>3</sub> | 2850                          |
| الأمين الأولي                                                         | 1650                          |
| الأمين الثانوي                                                        | 1550                          |
| انحناء مجموعة OH                                                      | 1440                          |
| C-OH الكحولية : تردد ماط                                              | 1010                          |
| حلقة البنزين                                                          | 909 - 650                     |
| هتزاز متأرجح C-C                                                      | 1000 - 800                    |
| R <sub>2</sub> C=CHR الألكينات                                        | 712                           |
| اهتزاز انحناء C-C                                                     | 500-466                       |

الجدول 13. المجاميع الفعالة ضمن الكتلة الحيوية لطحلب *C. fracta* النامي خلال فترة الخريف

| المجموعة الفعالة                                                      | الطول الموجي سم <sup>1-</sup> |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| N-H RNH <sub>2</sub> , R <sub>2</sub> NH                              | 3500-3400                     |
| مجموعة OH الكحولية                                                    | 3400 - 3200                   |
| التردد الماط غير المتماثل للمجموعة CH <sub>2</sub> أو CH <sub>3</sub> | 2933                          |
| انحناء مجموعة OH                                                      | 1436                          |
| C-OH الكحولية : تردد ماط                                              | 1093                          |
| حلقة البنزين                                                          | 909 - 650                     |
| اهتزاز متأرجح C-C                                                     | 1000 - 800                    |
| R <sub>2</sub> C=CHR الألكينات                                        | 712                           |
| اهتزاز انحناء C-C                                                     | 500-466                       |

### 3 - 2 - 4 - نتائج علاقة الارتباط بين العوامل المستقلة والتركيب الكيميائي لطحالب النوعين *C. crispata* و *C. fracta*

بمقارنة نتائج هذا البحث بنتائج الأبحاث الأخرى يظهر تأثير درجة الحرارة جلياً في تغير القيمة الغذائية لنوعي الطحالب *C. crispata* و *C. fracta* المدروسة، فقد تعرّضت الكتلة الحيوية للطحالب لدرجات حرارة مرتفعة عن الدرجة المثلى وأجهدت؛ ما أدى إلى زيادة نسبة محتوى الدهون والسكريات ضمن الكتلة الحيوية للطحالب يقابلها

نقص في نسبة محتوى البروتين، وهذا يتفق مع نتائج الأبحاث المماثلة (Zhu et al., 2014, 297)، وتم تأكيد هذا الأمر من خلال معادلة الانحدار الخطي البسيط للقيم المدروسة على أساس العامل المستقل - درجة الحرارة، ويتحقق أعلى معدل نمو (مرحلة ازدهار) للطحالب الخضراء في فصل الربيع، والخريف للطحالب النامية في البرك والأنهار (Fabrowska et al., 2018, 73)، إذ تشير نتائج هذا البحث إلى ارتفاع قيمة المحتوى البروتيني لطحالب *C. crispata* و *C. fracta* خلال فصل الازدهار. كما أن لوسط نمو الطحلب (التركيب الشاردي لمياه الأنهار) تأثيراً في الكتلة الحيوية للطحالب وتباين تركيبه الغذائي خلال مدة الدراسة، وتم تأكيد ذلك إحصائياً؛ وعليه فإن تغيير نسبة النتروجين إلى الفوسفات خلال مدة الدراسة أثرت أيضاً في التركيب الغذائي للطحالب المدروسة وتم التأكد من ذلك من خلال معامل الانحدار الخطي البسيط. بالنتيجة تعزى الفروق من حيث محتوى البروتين والسكريات والدهون والرطوبة والرماد إلى اختلاف مكونات وسط نمو الطحلب من حيث المغذيات واختلاف درجة حرارة فصل النمو أيضاً، إذ حُسب معامل الانحدار الخطي لهذه القيم على أساس العامل المستقل هو نسبة النتروجين إلى الفوسفات N:P، كما حُسب معامل الانحدار الخطي لهذه القيم على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة كما هو مبين في المعادلة 2:

$$Y = ax + b \quad (2)$$

y: العامل التابع

a: ميل معامل الانحدار

X: العامل المستقل

b: ثابت الانحدار

الانحدار الخطي، معامل التحديد والارتباط لطحلب *C. crispata* المعزول من نهر بردى للقيم المدروسة

على أساس العامل المستقل هو نسبة النتروجين إلى الفسفور N:P

$$Y_{N:P\_Protein} = 0.15 + 0.0018x; \quad r = 0.99$$

$$Y_{N:P\_lipid} = 0.21 - 0.0029x; \quad r = 0.97$$

$$Y_{N:P\_Carbohydrate} = 0.57 - 0.002x; \quad r = 0.99$$

$$Y_{N:P\_Moisture} = 0.031 + 0.0004x; \quad r = 0.99$$

$$Y_{N:P\_Ash} = 0.033 + 0.0026x; \quad r = 0.97$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى الكربوهيدرات والدهن للطحلب على أساس العامل المستقل هو نسبة P:

N كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من الكربوهيدرات والدهن.

وحُسب معامل الانحدار الخطي لهذه القيم على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة:

$$Y_{Temperature\_Protein} = 0.446 - 0.0064x; \quad r = 0.99$$

$$Y_{Temperature\_lipid} = -0.247 + 0.01x; \quad r = 0.98$$

$$Y_{Temperature\_Carbohydrate} = 0.236 + 0.0074x; \quad r = 0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_Moisture}} = 0.104 - 0.0016x; r=0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_Ash}} = 0.455 - 0.0093x; r=0.97$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى البروتين والرماد والرطوبة على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من البروتين والرماد والرطوبة.

الانحدار الخطي، معامل التحديد والارتباط لطحلب *C. crispata* المعزول من نهر سردي للقيم المدروسة على أساس العامل المستقل هو نسبة النتروجين إلى الفسفور N:P

الانحدار الخطي لهذه القيم على أساس العامل المستقل هو نسبة النتروجين إلى الفسفور N:P

$$Y_{\text{N:P\_Protein}} = 0.17 + 0.0012x; r=0.99$$

$$Y_{\text{N:P\_lipid}} = 0.155 - 0.0014x; r=0.95$$

$$Y_{\text{N:P\_Carbohydrate}} = 0.57 - 0.0015x; r=0.99$$

$$Y_{\text{N:P\_Moisture}} = 0.017 + 0.0005x; r=0.77$$

$$Y_{\text{N:P\_Ash}} = 0.075 + 0.0011x; r=0.92$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى الكربوهيدرات والدهن للطحلب على أساس العامل المستقل هو نسبة P:N كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من الكربوهيدرات والدهن.

وحُسب معامل الانحدار الخطي لهذه القيم على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة:

$$Y_{\text{Temperature\_Protein}} = 0.37 - 0.0051x; r=0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_lipid}} = -0.065 + 0.0075x; r=0.95$$

$$Y_{\text{Temperature\_Carbohydrate}} = 0.32 + 0.0063x; r=0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_Moisture}} = 0.106 - 0.0022x; r=0.77$$

$$Y_{\text{Temperature\_Ash}} = 0.252 - 0.0045x; r=0.92$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى البروتين والرماد والرطوبة على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من البروتين والرماد والرطوبة.

الانحدار الخطي، معامل التحديد والارتباط لطحلب *C. fracta* المعزول من نهر الأعوج للقيم المدروسة

على أساس العامل المستقل هو نسبة النتروجين إلى الفسفور N:P

$$Y_{\text{N:P\_Protein}} = 0.10 + 0.0013x; r=0.99$$

$$Y_{\text{N:P\_lipid}} = 0.108 - 0.0006x; r=0.87$$

$$Y_{\text{N:P\_Carbohydrate}} = 0.55 - 0.0013x; r=0.99$$

$$Y_{\text{N:P\_Moisture}} = 0.094 + 0.0004x; r=0.77$$

$$Y_{\text{N:P\_Ash}} = 0.14 + 0.002x; r=0.52$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى الكربوهيدرات والدهن للطحلب على أساس العامل المستقل هو نسبة P: N كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من الكربوهيدرات والدهن.

وحُسب معامل الانحدار الخطي لهذه القيم على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة:

$$Y_{\text{Temperature\_Protein}} = 0.38 - 0.0071x; \quad r=0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_lipid}} = -0.029 + 0.0034x; \quad r=0.87$$

$$Y_{\text{Temperature\_Carbohydrate}} = 0.26 + 0.0072x; \quad r=0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_Moisture}} = 0.18 - 0.0022x; \quad r=0.77$$

$$Y_{\text{Temperature\_Ash}} = 0.19 - 0.0011x; \quad r=0.52$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى البروتين، الرماد والرطوبة على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من البروتين، الرماد والرطوبة.

الانحدار الخطي، معامل التحديد والارتباط لطحلب *C.fracta* المعزول من نهر الكبير الشمالي للقيم المدروسة

على أساس العامل المستقل هو نسبة النتروجين إلى الفسفور N:P

$$Y_{\text{N:P\_Protein}} = 0.085 + 0.0018x; \quad r=0.99$$

$$Y_{\text{N:P\_lipid}} = 0.071 - 0.0013x; \quad r=0.74$$

$$Y_{\text{N:P\_Carbohydrate}} = 0.59 - 0.0013x; \quad r=0.99$$

$$Y_{\text{N:P\_Moisture}} = 0.064 + 0.0004x; \quad r=0.98$$

$$Y_{\text{N:P\_Ash}} = 0.18 + 0.0007x; \quad r=0.99$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى الكربوهيدرات والدهن للطحلب على أساس العامل المستقل هو نسبة P: N كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من الكربوهيدرات والدهن.

وحُسب معامل الانحدار الخطي لهذه القيم على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة:

$$Y_{\text{Temperature\_Protein}} = 0.23 - 0.0035x; \quad r=0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_lipid}} = -0.035 + 0.0025x; \quad r=0.74$$

$$Y_{\text{Temperature\_Carbohydrate}} = -0.49 + 0.025x; \quad r=0.99$$

$$Y_{\text{Temperature\_Moisture}} = 0.40 - 0.008x; \quad r=0.98$$

$$Y_{\text{Temperature\_Ash}} = 0.79 - 0.014x; \quad r=0.99$$

ويُلاحظ أن ميل معادلة الانحدار لمحتوى البروتين والرماد والرطوبة على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة كان سلبياً، وعليه يمكن التنبؤ بالتأثير السلبي للعامل المستقل على المحتوى من البروتين والرماد والرطوبة. في جميع المعاملات وجد أن قيمة  $p$ -value لمعلمة ميل الانحدار الخطي البسيط للمتغير المستقل أصغر من 0.01 وبالتالي يمكننا رفض فرضية العدم وقبول الفرضية البديلة والتي تقول أن العامل المستقل يؤثر بشكل معنوي في العامل التابع، كما وجد أن قيمة  $F$ -value لنموذج الانحدار الخطي البسيط أصغر من  $F$  الجدولية وهذا يشير إلى إمكانية استخدام نموذج الانحدار الخطي البسيط لشرح تغيرات المتغير التابع. ويُلاحظ من العلاقات السابقة أنه بالإمكان التنبؤ عن قيمة العامل التابع من خلال قيمة ميل مستقيم الانحدار المتحصل عليه عند حساب معادلة الانحدار الخطي (في حالة الطحلب النامي في النهر الكبير الشمالي على سبيل المثال) بين نسبة النتروجين : الفوسفات والمحتوى من السكريات الكلية 0.0013 - إلى أن زيادة نسبة النتروجين إلى الفوسفات تعمل على إنقاص نسبة السكريات الكلية ضمن الكتلة الحيوية للطحلب بمقدار 0.13%، أما قيم معامل الارتباط كانت إيجابية وذات دلالة إحصائية عند مستوى معنوية 0.01، وتشير إلى قوة العلاقة بين العامل المستقل والعامل التابع، وأن هنالك علاقة طردية إيجابية بين العامل المستقل والعامل التابع (حميدان وآخرون، 2006، 326، ديب، 2018، 126 - 129).

### 3-3 - نتائج إكثار طحالب النوعين *C. crispata* و *C. fracta* مخبرياً

#### 3-3-1 - أطوار النمو لطحالب النوعين *C. crispata* و *C. fracta* عند استزراعها مخبرياً

من خلال الجداول 14 - 16 وجد أن طحالب كلا النوعين دخلا طور النمو اللوغاريتمي في اليوم الثالث واستقر في اليوم التاسع لدى طحلب *C. crispata*، واليوم العاشر لدى طحلب *C. fracta* عند الاستزراع في وسط مياه الصرف الصحي المعقمة، وأدى استزراع طحلب *C. crispata* في وسط BBM إلى بدء طور النمو اللوغاريتمي في اليوم الخامس، وفي اليوم الرابع لدى طحلب *C. fracta* واستقرا في اليوم السابع عشر على الترتيب. وأدى استزراع طحالب الكلاذوفورا في وسط مستخلص التربة إلى دخول طحلب *C. crispata* في مرحلة النمو اللوغاريتمي في اليوم الخامس، وفي اليوم الرابع لدى طحلب *C. fracta* واستقر في اليوم الثاني والعشرين في طحلب *C. crispata*، والعشرين في طحلب *C. fracta*، وبعد طور الثبات دخلت الطحالب في مرحلة الهبوط في جميع الأوساط، لذا تم تحديد زمن حصاد الطحلب المستزراع وفقاً لكل وسط نمو، كما هو مبين في الجداول 14 حتى 16.

كان معدل النمو النسبي لطحالب *C. crispata* 0.310، 0.27، 0.185 خلية/ساعة، وزمن تضاعف، 0.97، 1.11، 1.62 ساعة؛ أما معدل النمو النسبي لطحالب *C. fracta* فكان 0.290، 0.253، 0.192 خلية/ساعة، وزمن تضاعف، 1.03، 1.18، 1.56 ساعة في أوساط الصرف الصحي المعقمة وBBM ومستخلص التربة على الترتيب؛ إذ حقق نمو الطحالب في وسط مياه الصرف الصحي المعقمة أعلى معدل نمو وأقل زمن تضاعف تلاه وسط BBM ثم وسط مستخلص التربة (الجدول 14 - 16).

وعند مقارنة منحني النمو للطحالب في أوساط النمو موضوع البحث تبين أن وسط مياه الصرف الصحي المعقمة أدت إلى تخفيض مرحلة النمو اللوغاريتمي مقارنة مع بقية الأوساط، ويتفق هذا مع نتائج الباحثين (Zhang *et al.*, 2014, 6134)، إذ انخفضت مدة طور النمو اللوغاريتمي، ودخلت الطحالب في طور الثبات بزمان مبكر عند استزراع طحلب *Chlamydomonas debaryana* في وسط مياه الصرف الصحي المعقمة، مقارنة بوسط مستخلص التربة. وتبين أن استعمال وسط BBM أدى إلى الحصول على أعلى نمو لطحلب *Cladophora* مقارنة بمعاملة الشاهد (ماء الحنفية) عند آخرين (Verawaty *et al.*, 2017, 269)، وكذلك فمن النادر جداً أن ينمو طحلب *Cladophora* في مياه النهر المرشحة أو أوساط تحتوي على المعادن من دون إضافة مستخلص التربة بنسبة 10%؛ ما يؤكد الدور التحفيزي السريع لمستخلص التربة لنمو طحلب *Cladophora* (Hoffman *et al.*, 1974, 589)، وقام Moore and Mclarty بتفسير دور مستخلص التربة بسبب احتوائه على التيامين، وخلصوا إلى نتيجة مفادها إنه بإمكان أمثلة نمو الطحالب *Cladophora glomerata* عند احتواء 1 لتر من وسط نمو الطحلب على 10 ميكروغرام حمض التيامين إما عن طريق مستخلص التربة أو كفيتامين نقي، أما احتواؤه على 1 ميكروغرام تيامين فقد حقق نمواً مرضياً (Moore and Mclarty, 1975, 533).

الجدول 14. أطوار النمو لطحالب النوعين *C. frakta* و *C. crispata* عند استزراعها في وسط الصرف الصحي .

| وسط التنمية        | طور النمو Growth phase على وسط الصرف الصحي (يوم) |                 |                   |                   | ثابت النمو K<br>خلية/سا | زمن التضاعف G<br>سا |
|--------------------|--------------------------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------------|---------------------|
|                    | الركود lag                                       | اللوغاريتمي log | الثبات stationary | الحصاد harvesting |                         |                     |
| <i>C. crispata</i> | 2-0                                              | 8-3             | 17-9              | 15-10             | 0.310                   | 0.97                |
| <i>C. frakta</i>   | 2-0                                              | 9-3             | 19-10             | 17-11             | 0.290                   | 1.03                |

الجدول 15. أطوار النمو لطحالب النوعين *C. frakta* و *C. crispata* عند استزراعها في وسط BBM.

| وسط التنمية        | طور النمو Growth phase على وسط BBM (يوم) |                 |                   |                   | ثابت النمو K<br>خلية/سا | زمن التضاعف G<br>سا |
|--------------------|------------------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------------|---------------------|
|                    | الركود lag                               | اللوغاريتمي log | الثبات stationary | الحصاد harvesting |                         |                     |
| <i>C. crispata</i> | 4-0                                      | 16-5            | 29-17             | 27-19             | 0.270                   | 1.11                |
| <i>C. frakta</i>   | 3-0                                      | 16-4            | 30-17             | 28-19             | 0.253                   | 1.18                |

الجدول 16. أطوار النمو لطحالب النوعين *C.fracta* و *C.crispata* عند استزراعها في وسط مستخلص التربة.

| زمن التضاعف<br>G<br>سا | ثابت النمو<br>K<br>خلية/سا | طور النمو Growth phase على وسط مستخلص التربة (يوم) |                      |                    |               | وسط التنمية       |
|------------------------|----------------------------|----------------------------------------------------|----------------------|--------------------|---------------|-------------------|
|                        |                            | الحصاد<br>harvesting                               | الثبات<br>stationary | اللوغاريتمي<br>log | الركود<br>lag |                   |
| 1.62                   | 0.185                      | 29-24                                              | 31-22                | 21-5               | 4-0           | <i>C.crispata</i> |
| 1.56                   | 0.192                      | 29-22                                              | 31-20                | 19-4               | 3-0           | <i>C.fracta</i>   |

### 3-2- التركيب الكيميائي لطحالب النوعين *C.fracta* و *C.crispata* النامية ضمن أوساط الصرف الصحي، وسط مستخلص التربة، ووسط BBM:

يُلاحظ من الجدولين 17، 18 وجود فروق معنوية في التركيب الكيميائي الغذائي للطحالب النامية في الأنهار وبين الطحالب النامية في أوساط النمو المختلفة (صرف معقم، مستخلص تربة، BBM)، وظهر ذلك جلياً عند تقدير المحتوى البروتيني، الكربوهيدراتي والدهني. ولوحظ عدم وجود فروق معنوية (0.01) في التركيب الكيميائي الغذائي للطحالب النامية في الأنهار وبين الطحالب النامية في وسط مستخلص التربة عند تقدير المحتوى من الفينولات الكلية والرماد (فقط *C.crispata*) من جهة، ومن جهة أخرى بين وسط نمو الصرف الصحي ووسط BBM في محتوى اليخضور a والكاروتينات (فقط *C.crispata*)، وبين وسط نمو الصرف الصحي ووسط مستخلص التربة في النسبة المئوية للرطوبة (فقط *C.crispata*)، ومحتوى اليخضور a واليخضور الكلي (فقط *C.crispata*).

إذ إن تنمية طحلب *Cladophora crispate* على وسط مياه الصرف الصحي المعقم 10% أدت إلى زيادة في قيم المحتوى الغذائي باستثناء المحتوى الكربوهيدراتي والدهني والرماد والمحتوى من الكاروتينات مقارنةً بالطحلب النامي في النهر، وهذا يتفق مع نتائج الأبحاث الأخرى (Shijian and Pascale, 2017, 3560)، وجد أن الطحالب النامية في وسط الصرف الصحي كان لها أقل محتوى من الرماد من تلك النامية في الأنهار ويتفق ذلك مع (Hampel, 2013, 85). ومن خلال الجدول 17؛ تبين أن تنمية طحلب *C. crispata* و *C. fracta* في أوساط مرتفعة النتروجين مثل وسط الصرف الصحي المعقم أدى إلى ارتفاع المحتوى البروتيني إلى 44، 40% على التوالي. وانخفاض المحتوى الكربوهيدراتي والدهني إلى 24، 24.54 و 2، 2.5% على الترتيب.

وجد معامل ارتباط سلبي دال إحصائياً عند مستوى معنوية 0.01 بين المحتوى البروتيني والكربوهيدراتي  $r=-0.837$  وآخر سلبي دال إحصائياً عند مستوى معنوية 0.01 بين المحتوى البروتيني والدهني  $r=-0.574$  في جميع المعاملات، وهذا ما يفسر قيم المحتوى الكيميائي للطحالب عند استزراعها في وسط BBM - منخفض النتروجين - الذي أعطى أعلى محتوى كربوهيدراتي 41% وأقل محتوى بروتيني 17% مقارنة بوسط الصرف الصحي المعقم ومستخلص التربة، ويمكن تعزيز هذه النتائج بملاحظة زيادة قيمة اليخضور الكلي في الأوساط مرتفعة النتروجين مثل وسط الصرف الصحي المعقم، ويتفق ذلك أيضاً مع نتائج أخرى إذ تبين زيادة قيمة محتوى

اليخضور في أوراق الشعير المروي بمياه الصرف الصحي (Abbood and Naser, 2014, 482)، ويعزى ذلك لاحتواء مياه الصرف الصحي على النتروجين المهم في عملية تركيب اليخضور، وغياب النتروجين يؤدي إلى نقصان اليخضور وزيادة الكربوهيدرات (Arumugam et al., 2013, 246). وقد تبين من خلال حساب معامل الارتباط وجود ارتباط بين المحتوى البروتيني والمحتوى من اليخضور الكلي  $r=0.785$  في جميع المعاملات. ومن خلال الجدول 17 يُلاحظ أن أعلى قيم لليخضور الكلي 884.5 ميكروغرام / غ والفينولات الكلية 3223 ميكروغرام / غ والنشاط المضاد للتأكسد 51% وجدت عند استزراع الطحالب في وسط الصرف الصحي المعقم، وهناك معامل ارتباط دال إحصائياً عند مستوى معنوية 0.01 يوجد بين النشاط المضاد للأكسدة والمحتوى من اليخضور الكلي  $r=0.948$ ، وآخر بين النشاط المضاد للتأكسد والمحتوى من الفينولات الكلية  $r=0.744$  في جميع المعاملات. ويُلاحظ من الجدول 18 أن تنمية الطحالب في وسط مستخلص التربة وBBM أدى إلى الحصول على أعلى محتوى دهني 9 و 7% في حالة طحلب *C. crispata* و 8 و 7% في حالة طحلب *C. fracta* على الترتيب، إذ إن مستخلص التربة يحتوي على الكوبالت الذي تستعمله الطحالب من أجل إنتاج الدهن، وجاءت نتائج هذا البحث متفقة مع (Teo et al., 2013, 24)، إذ كانت نسبة الكوبالت 2.479 ميكروغرام/كغ تربة، وقد بينت الأبحاث (Verawaty et al., 2017, 271) أن استعمال وسط BBM أدى إلى الحصول على أعلى محتوى دهني لطحلب *Cladophora* مقارنة بمعاملة الشاهد (ماء الحنفية). كما نلاحظ من خلال الجدول نفسه تفوق وسط BBM على وسطي الصرف الصحي المعقم ووسط مستخلص التربة من حيث محتوى الكتلة الحيوية لطحالب النوعين الكلادوفورا من الكربوهيدرات، إلا أنها أقل من المحتوى الكربوهيدراتي للطحالب النامية في النهر، ويعود الاختلاف بين معدل النمو والتركيب الكيميائي للطحالب النامية في الأنهار عن تلك النامية ضمن الأوساط الزراعية إلى العوامل الفيزيوكيميائية لمياه الأنهار مثل درجة الحرارة، مدة الإضاءة وشدتها، وجود ركيزة تلتصق عليها تلك الطحالب، سرعة تدفق المياه من ركوده، و التركيب الشاردي للمياه (Dodds and Gudder, 1992, 420; Parker and Maberly, 2000, 307–308).

الجدول 17. التركيب الكيميائي لطحالب *C. crispata* في أوساط النمو المختلفة.

| وسط التنمية              |                                 |                               |                           | المحتوى                              |
|--------------------------|---------------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------------------|
| النامي على وسط<br>BBM    | النامي على وسط<br>مستخلص التربة | النامي على وسط<br>الصرف الصحي | النامي في النهر           | الغذائي<br>للطحلب                    |
| 9.5±0.001 <sup>b</sup>   | 13±0.01 <sup>a</sup>            | 12±0.01 <sup>a</sup>          | 5.7±0.01 <sup>c</sup>     | الرطوبة %                            |
| 21.5±0.005 <sup>a</sup>  | 18±0.004 <sup>b</sup>           | 16±0.005 <sup>c</sup>         | 18±0.003 <sup>b</sup>     | الرماد %                             |
| 490±0.01 <sup>b</sup>    | 566±0.017 <sup>a</sup>          | 528.5±0.025 <sup>ab</sup>     | 357.25±0.026 <sup>c</sup> | اليخضور<br>ميكروغرام/غ               |
| 207.8±0.007 <sup>d</sup> | 313±0.003 <sup>b</sup>          | 356±0.006 <sup>a</sup>        | 290±0.003 <sup>c</sup>    | اليخضور<br>ميكروغرام/غ               |
| 697.8±0.018 <sup>b</sup> | 879±0.036 <sup>a</sup>          | 884.5±0.004 <sup>a</sup>      | 647.25±0.007 <sup>b</sup> | اليخضور<br>الكلية<br>ميكروغرام/غ     |
| 120±0.004 <sup>c</sup>   | 144.5±0.0002 <sup>a</sup>       | 129±0.0004 <sup>c</sup>       | 137.3±0.0005 <sup>b</sup> | الكاروتينات<br>الكلية<br>ميكروغرام/غ |
| 17±0.01 <sup>d</sup>     | 32±0.002 <sup>b</sup>           | 44±0.0025 <sup>a</sup>        | 25.6±0.003 <sup>c</sup>   | البروتين %                           |
| 41±0.006 <sup>b</sup>    | 28±0.01 <sup>c</sup>            | 24±0.01 <sup>d</sup>          | 45.3±0.002 <sup>a</sup>   | كربوهيدرات %                         |
| 7±0.01 <sup>b</sup>      | 9±0.001 <sup>a</sup>            | 2±0.002 <sup>d</sup>          | 5.2±0.002 <sup>c</sup>    | الدهن %                              |
| 3111±0.002 <sup>b</sup>  | 3150±0.05 <sup>b</sup>          | 3223±0.025 <sup>a</sup>       | 3077±0.012 <sup>b</sup>   | الفينولات<br>الكلية<br>ميكروغرام / غ |
| 46±0.002 <sup>c</sup>    | 49±0.01 <sup>b</sup>            | 51±0.01 <sup>a</sup>          | 43±0.001 <sup>d</sup>     | النشاط المضاد<br>للأكسدة %           |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

الجدول 18. التركيب الكيميائي لطحالب *C. fracta* في أوساط النمو المختلفة.

| وسط التنمية             |                                 |                               |                          | المحتوى الغذائي<br>للطحلب         |
|-------------------------|---------------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------------------------|
| النامي على وسط<br>BBM   | النامي على وسط<br>مستخلص التربة | النامي على وسط<br>الصرف الصحي | النامي في النهر          |                                   |
| 18 ±0.007 <sup>c</sup>  | 15±0.007 <sup>d</sup>           | 20±0.007 <sup>a</sup>         | 19±0.007 <sup>b</sup>    | الرطوبة %                         |
| 20±0.002 <sup>c</sup>   | 24±0.002 <sup>b</sup>           | 13±0.002 <sup>d</sup>         | 41±0.002 <sup>a</sup>    | الرماد %                          |
| 987±0.06 <sup>c</sup>   | 1015±0.05 <sup>b</sup>          | 1214±0.12 <sup>a</sup>        | 963± 0.012 <sup>c</sup>  | اليخضور a<br>ميكروغرام/غ          |
| 499±0.02 <sup>a</sup>   | 474±0.007 <sup>a</sup>          | 428±0.03 <sup>a</sup>         | 384± 0.007 <sup>b</sup>  | اليخضور b<br>ميكروغرام/غ          |
| 1486 ±0.34 <sup>b</sup> | 1489±0.38 <sup>b</sup>          | 1628±0.55 <sup>a</sup>        | 1347± 0.014 <sup>c</sup> | اليخضور الكلي<br>ميكروغرام/غ      |
| 90±0.01 <sup>b</sup>    | 114±0.015 <sup>a</sup>          | 75±0.01 <sup>c</sup>          | 90± 0.006 <sup>b</sup>   | الكاروتينات الكلية<br>ميكروغرام/غ |
| 13±0.19 <sup>d</sup>    | 25.91±0.34 <sup>b</sup>         | 40±0.69 <sup>a</sup>          | 15.8± 0.20 <sup>c</sup>  | البروتين %                        |
| 41.91±0.74 <sup>a</sup> | 27±1.11 <sup>b</sup>            | 24.54±0.74 <sup>c</sup>       | 19.2± 0.37 <sup>d</sup>  | كربوهيدرات %                      |
| 7±0.05 <sup>c</sup>     | 8±0.031 <sup>b</sup>            | 2.5±0.05 <sup>a</sup>         | 3.18± 0.031 <sup>d</sup> | الدهن %                           |
| 270±0.25 <sup>b</sup>   | 276± 0.148 <sup>b</sup>         | 3100±1.484 <sup>a</sup>       | 276± 0.148 <sup>b</sup>  | الفينولات الكلية<br>ميكروغرام /غ  |
| 47±0.002 <sup>c</sup>   | 48±0.01 <sup>b</sup>            | 50 ±0.01 <sup>a</sup>         | 41±0.002 <sup>d</sup>    | النشاط المضاد<br>للتأكسد %        |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

### 3 - 4 - نتائج إكثار طحالب النوعين *C. crispata* و *C. fracta* بتطبيق نظام الأحواض المفتوحة

### 3 - 4 - 1- القياسات البيئية

من خلال الجدول 19 يُلاحظ تأثير فصل النمو في درجة حرارة الماء ضمن أحواض الإكثار وكذلك في شدة الإضاءة ومدتها، مع ملاحظة أن هذه المؤشرات أخذت من منطقة الدراسة دمشق، البرامكة، قسم علم الحياة

النباتية. وقد تميز فصل الصيف بأعلى قيم لدرجات الحرارة، شدة الإضاءة ومدتها، تلاه فصل الخريف في المرتبة الثانية إلا أنه أقل في مدة الإضاءة من فصل الربيع.

الجدول 19. القياسات البيئية الخاصة بتجربة الأحواض خلال فترة الدراسة.

| الفصل / المؤشرات | درجات الحرارة<br>درجة مئوية | شدة الإضاءة<br>لوكس * 100 | مدة الإضاءة<br>ساعة |
|------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------|
| ربيع             | 28±0.26<br>C                | 470±10<br>C               | 13.10±0.20<br>B     |
| صيف              | 35±0.14<br>A                | 1010±10<br>A              | 14±0.53<br>A        |
| خريف             | 30±0.24<br>B                | 860±10<br>B               | 11.34±0.35<br>C     |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

### 3-4-2- تأثير نسبة النتروجين/ فوسفات وموسم النمو في معدل نمو طحالب النوعين *C. crispata* و *C. fracta*

يُلاحظ من الشكل 10 وجود تباين بين المعاملات المختلفة من حيث تأثير نسبة النتروجين إلى الفوسفات، موسم النمو، ضخ هواء من عدمه في معدل النمو النسبي وزمن التضاعف لطحالب الكلادوفورا. فمن خلال الشكل 10 تبين أنه تم تحقيق أعلى معدل نمو 2.1 خلية/ساعة وأقل زمن تضاعف 0.14 ساعة خلال موسم الربيع في المعاملة التي استعمل معها نسبة النتروجين (عضوي) إلى الفوسفات 1.2/1.2، مع ضخ هواء. تلاها في المرتبة الثانية طحالب الكلادوفورا النامية خلال موسم الخريف ثم الصيف. ويمكن القول إن معدل النمو النسبي في موسم الربيع كان أعلى منه في مواسم الخريف والصيف (إذ يتسم فصل الخريف بمناخ مقارب لفصل الصيف في منطقة الدراسة)، نتائج سابقة مماثلة أخبر عنها، إذ انخفض معدل نمو طحلب الكلادوفورا غلومراتا *Cladophora glomerata* بارتفاع درجة الحرارة من 25 حتى 30 م° (Robinson and Hawkes, 1986, 442)، وأدى ارتفاع درجة الحرارة إلى انخفاض تركيب البروتين وانخفاض معدل النمو (Konopka and Brock, 1978, 575).

يُعد النتروجين عنصراً مهماً لنمو طحالب الكلادوفورا على درجات الحرارة المنخفضة والمعتدلة، ويزداد معدل النمو بازدياد تركيز النتروجين، ويتراجع إلى أدنى معدل نمو عند درجات الحرارة المرتفعة والتركيز المنخفض من النتروجين (De Paula Silva *et al.*, 2012, 260) وجاءت نتائج تنمية طحالب الكلادوفورا في هذا البحث متفقة مع هذا المبدأ؛ إذ ارتفع معدل النمو في النوع *C. crispata* من 0.199 في المعاملة 1 N:1P إلى 0.52 في المعاملة 3N:1P، ولدى *C. fracta* فقد ارتفع معدل النمو من 0.06 إلى 0.21 خلية/ساعة عند المعاملة 3N:1P (في ظروف استعمال مصدر نتروجين معدني و بدون ضخ هواء) وذلك خلال فصل الربيع،

أما في فصل الصيف (في ظروف استعمال مصدر نيتروجين عضوي و ضخ هواء) فقد كان معدل النمو في المعاملات التي استعمل معها نسبة 1P: 1N في النوع *C. crispata* و النوع *C. fracta* 0.166 و 0.13 خلية/ساعة على التوالي، ووصل إلى 0.3 و 0.28 خلية/ساعة على التوالي في المعاملات التي استعمل معها نسبة 1P: 3N؛ إذ وجد أن تأثير النيتروجين في معدل النمو كان أكثر فاعلية في درجات الحرارة المعتدلة و يتفق ذلك مع دراسة سابقة (Menegol et al., 2017)،

وبغض النظر عن موسم النمو فقد وُجد أن ازدياد تركيز النيتروجين أو الفوسفات قاد إلى تحسن معدل النمو لطحالب الكلاذوفورا، و يتفق ذلك مع (Robinson and Hawkes, 1986, 444; Smit, 1997, 477) فعند ازدياد تركيز النيتروجين من 0.4 إلى 1.2 ازداد معدل النمو النسبي للطحالب من 0.06 إلى 0.23 خلية / ساعة الشكل 10 ( صيف - ضخ، نيتروجين معدني) كما أدى ازدياد تركيز الفوسفات من 0.4 إلى 1.2، وازداد معدل النمو النسبي للطحالب من 0.044 إلى 0.97 خلية / ساعة شكل 10 (صيف - ساكن، نيتروجين معدني). كما وجد أن النيتروجين ذا المصدر العضوي قد زاد من معدل النمو لدى طحالب الكلاذوفورا النامية ضمن الظروف المختبرة نفسها في جميع المعاملات، و يتفق ذلك مع بحث (Ruckert and Giani, 2004, 328). وبالتجريب وجد أن ضخ الهواء أدى إلى زيادة معدل النمو لطحالب الكلاذوفورا النامية ضمن الظروف نفسها ( الشكل 10) مقارنة بالمعاملات التي نمت ضمن المزارع الساكنة و يتفق ذلك مع دراسة أخرى (Munir et al., 2015, 549)

كما وجد أن بمقدرة الطحالب النمو في ظروف خالية من النيتروجين والفوسفات، كما هو الحال في معاملات الشاهد، لأنها تعتمد على المخزون لديها من العناصر المغذية ( Robinson and Hawkes, 1986, 444; Smit, 1997).

### 3 - 4 - 3 تأثير نسبة النيتروجين/فوسفات وموسم النمو في المحتوى الكربوهيدراتي لطحالب النوعين *C. crispata* و *C. fracta*

تُشير هذه الدراسة المحلية الى تشابه الظروف المناخية في فصل الصيف والخريف في منطقة الدراسة (البرامكة - جامعة دمشق). من خلال الجدولين 21 و 22 يُلاحظ أنه تم الحصول على أعلى محتوى كربوهيدراتي عند إكثار طحالب الكلاذوفورا خلال موسم الصيف 75.23% تلاه موسم الخريف 70.42% عند استعمال المعاملة رقم 3 ذات ظروف التغذية 3N/1P، إذ أدى ارتفاع درجة الحرارة إلى زيادة تكون الكربوهيدرات ضمن الكتلة الحيوية للطحالب. و يتفق ذلك مع دراسة أخرى (Kalacheva et al., 2002, 287)، دراسة مشابهة على الطحالب الدقيقة الخضراء *Tetraselmis suecica* التي أكدت على انخفاض معدل النمو (انخفاض تكون البروتين) وارتفاع تكون الكربوهيدرات عند تنمية هذا النوع من الطحالب على درجات حرارة مرتفعة (Sas et al., 2021, 10)، إذ إن ظروف الإجهاد البيئي الحراري جعل الكتلة الحيوية للطحالب تصل إلى طور النمو المستقر بوقت مبكر، وتحويل المحتوى الكربوني إلى كربوهيدرات (Zhu et al., 1997, 455).

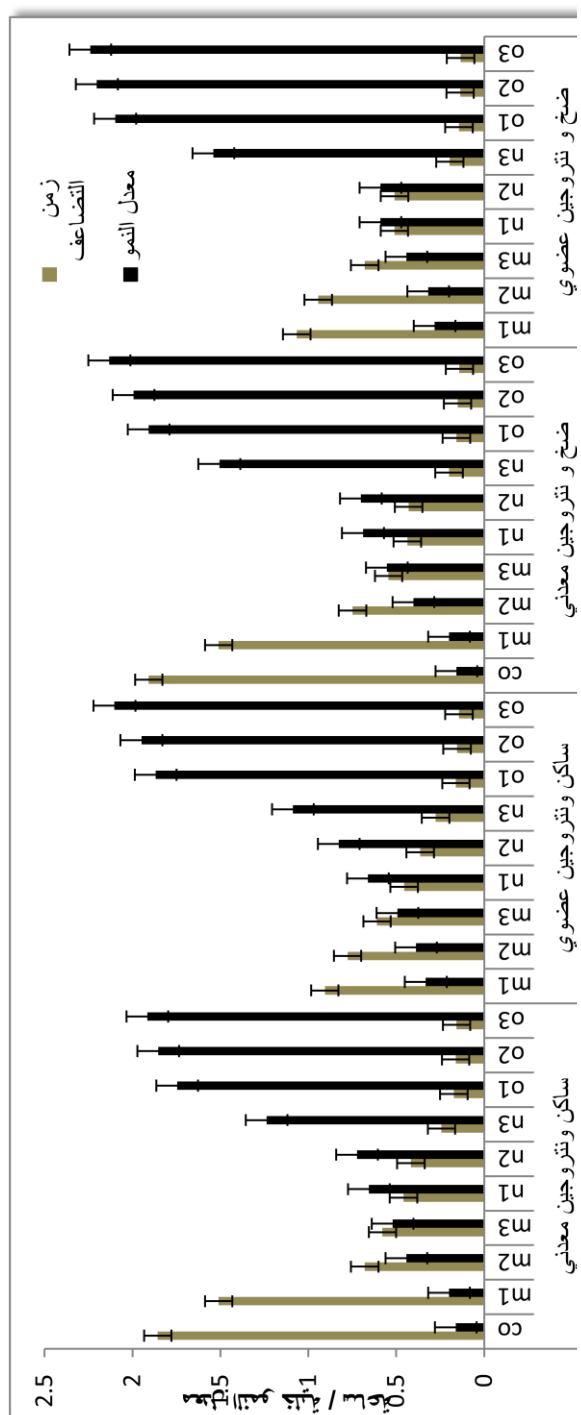
أخبرت دراسة سابقة أن نسبة النيتروجين إلى الفوسفات بمقدار 1/2 أعطت أعلى محتوى كربوهيدراتي وأقل محتوى بروتيني (أقل معدل نمو)، وجاءت نتائجنا متفقة معهم، كما وجدنا أن نسبة النيتروجين إلى الفوسفات

بمقدار 3 / 1 أعطت النتائج المذكورة نفسها، وعللت هذه النتائج بأنه عند نسبة النتروجين إلى الفوسفات المنخفضة فإن النتروجين ينفذ بسرعة ويتحول إلى وسط قليل النتروجين، وعلى النقيض من ذلك في حال نسبة النتروجين إلى الفوسفات المرتفعة، كما ذكرت هذه الدراسة هنالك علاقة ارتباط سلبية قوية بين تكون الكربوهيدرات والبروتين ضمن الكتلة الحيوية للطحالب الخضراء (Ross et al., 2018, 8)، وأعطت المعاملات كافة ذات ظروف التغذية N/P أعلى محتوى كربوهيدراتي خلال موسم الربيع 56.73% للنوع كرسباتا و 56.36% للنوع فركتا، إذ وجد كلهام أنه في ظروف درجة الحرارة المعتدلة وفي البيئات ذات المحتوى القليل من المصدر النتروجيني أو الفوسفاتي، يتحقق أقل محتوى بروتيني وأعلى محتوى كربوهيدراتي في الكتلة الحيوية للطحالب الخضراء (Kilham et al., 1997).

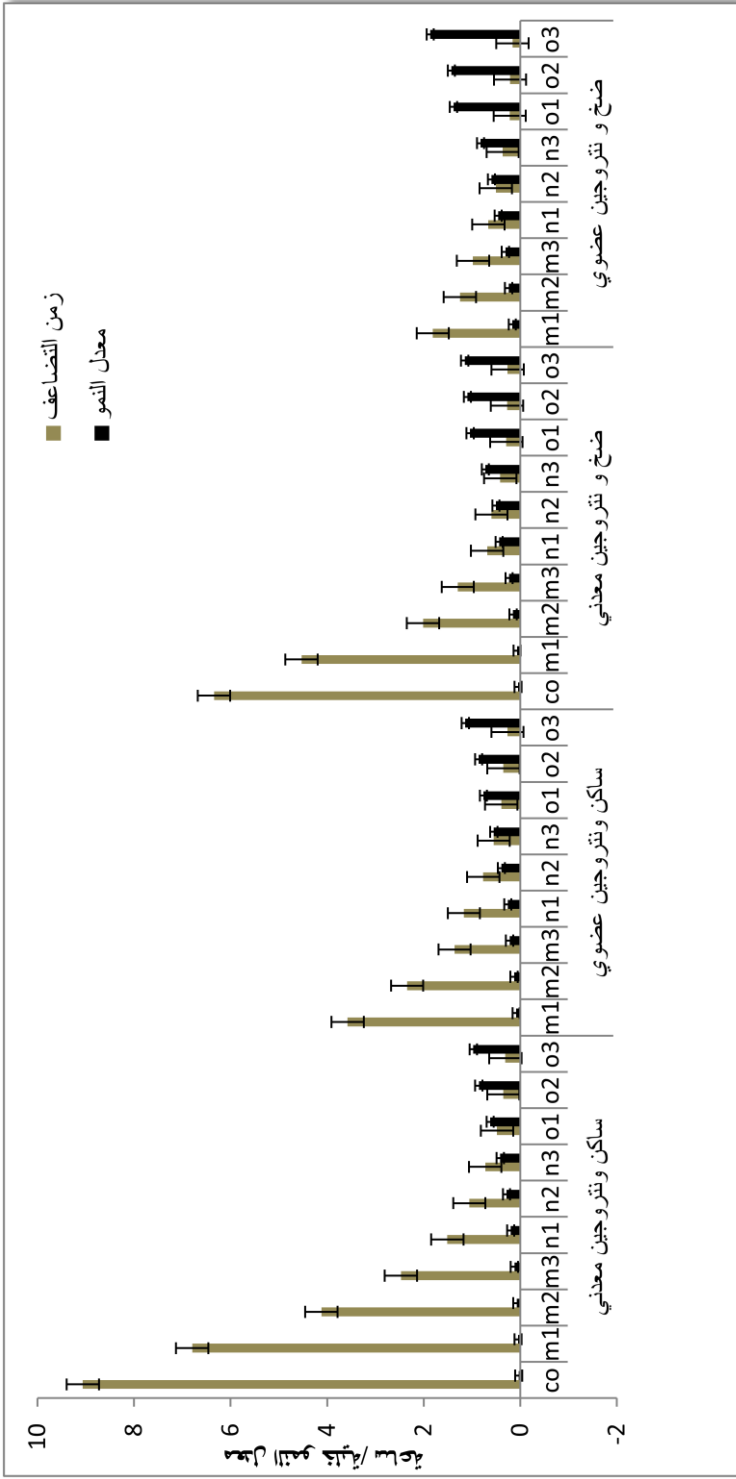
كما تشير النتائج من الجدولين 20 و 21 عند درجات الحرارة المعتدلة وعند المعاملات التي استعمل معها تركيز النتروجين نفسه، فإن النتروجين لم يؤثر في المحتوى الكربوهيدراتي سواء كان النتروجين ذو مصدر عضوي أم معدني وسواء كانت المزارع ساكنة أم منشطة، قد أثر ازدياد تركيزه سلباً في المحتوى الكربوهيدراتي، وأدى ارتفاع تركيز النتروجين إلى زيادة المحتوى الكربوهيدراتي في درجات الحرارة المرتفعة وذلك يتفق مع دراسة سابقة (Menegol et al., 2017, 31)

وبغض النظر عن موسم النمو فقد وجد أن المعاملات التي استعمل معها مستخلص الخميرة أعطت أعلى قيم للمحتوى الكربوهيدراتي، كما وجد أيضاً أن ارتفاع تركيز الفوسفات قاد إلى انخفاض تكون الكربوهيدرات ضمن الكتلة الحيوية لطحالب الكلادفورا، ويتفق ذلك مع بحث آخر Khuantrairong and (2011, Traichaiyaporn, 291)، إذ إنه في البيئات منخفضة الفوسفات يحدث تكون البروتين على نحو منخفض ويقل معدل النمو، ويرتفع المحتوى الكربوهيدراتي (Kilham et al., 1997, 594).

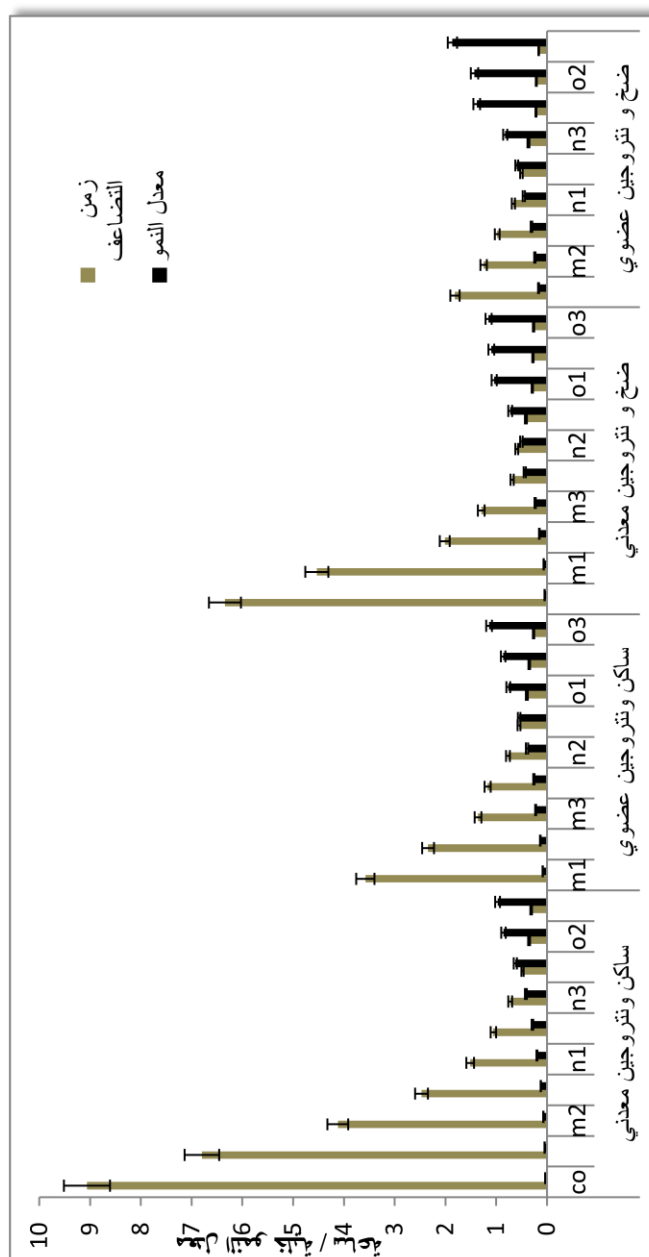
كما وجد Fabregas وزملاؤه (1995, 192) أن ضخ الهواء يزيد من تكوين الكربوهيدرات ضمن الكتلة الحيوية للطحالب، وجاءت نتائج هذا البحث متفقة مع ذلك.

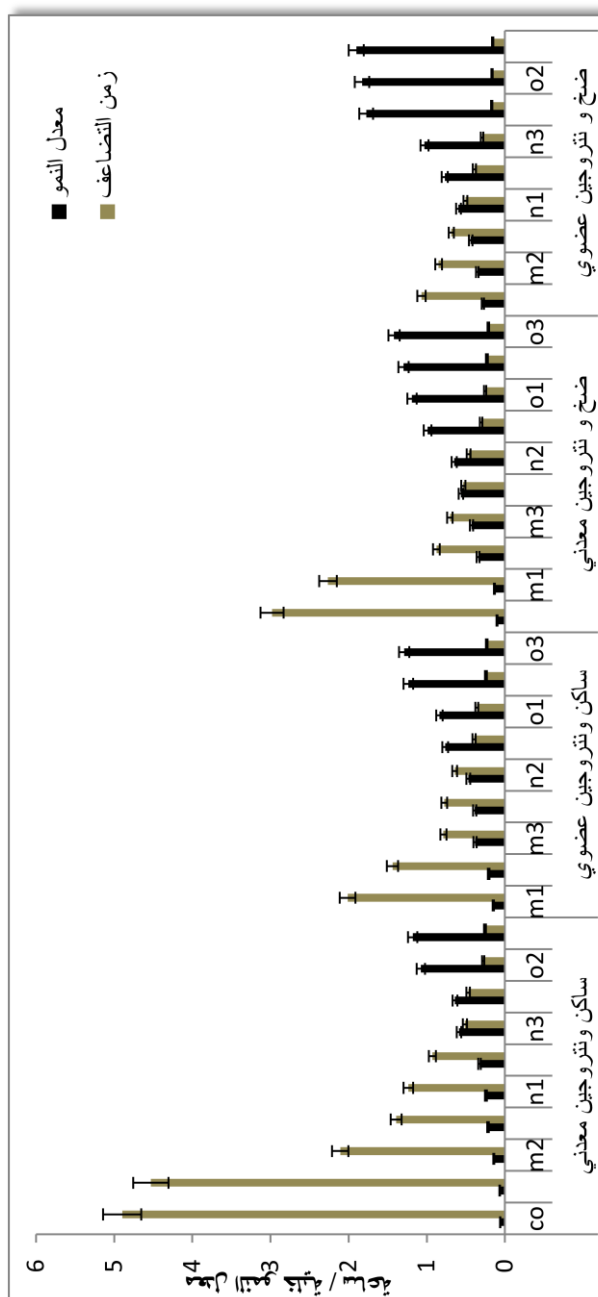


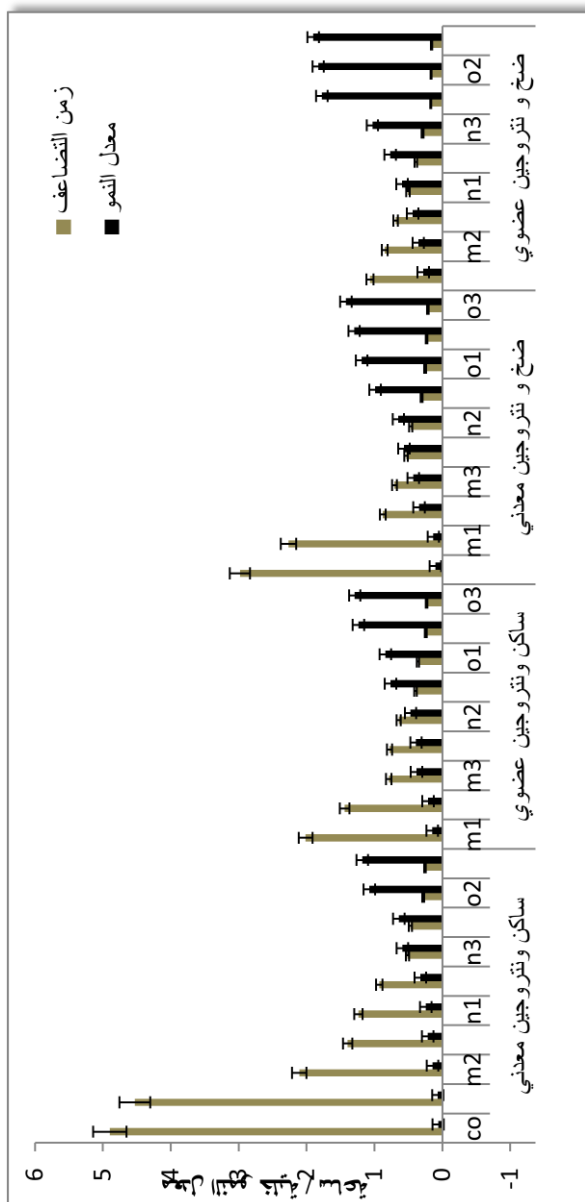
أ. معدل النمو وزمن التضاعف لفصل الربيع لطحلب *C. crispata*

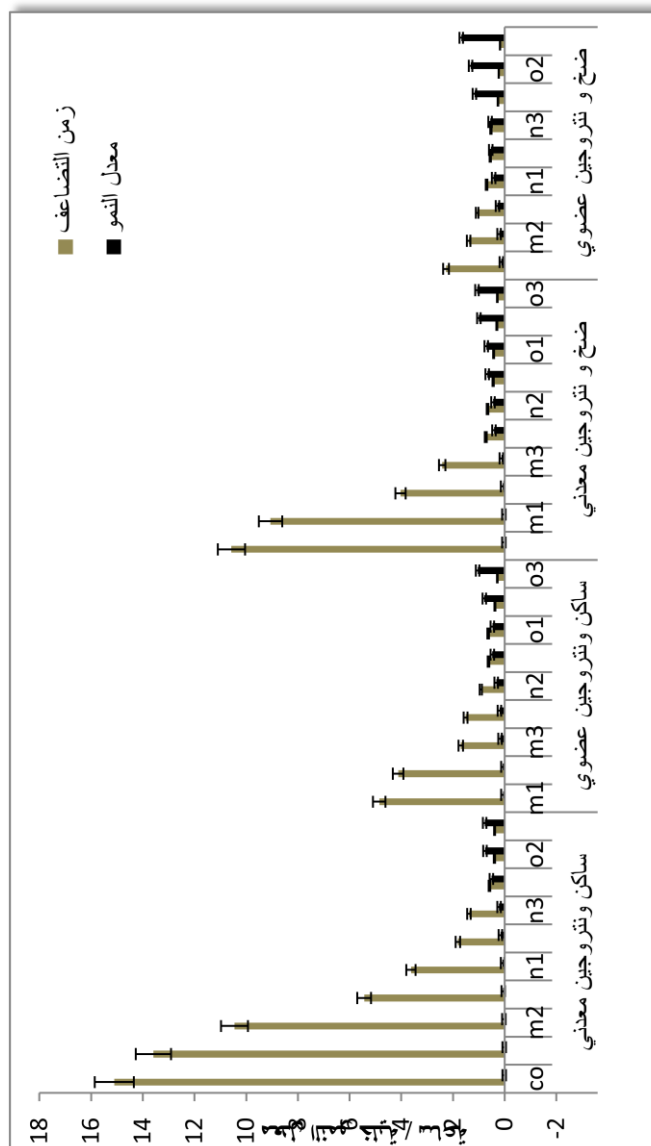


ب. معدل النمو وزمن التضاعف لفصل الخريف لطحاب *C. crispata*

ت. معدل النمو وزمن التضاعف لفصل الصيف لطحلب *C. crispata*

ث . معدل النمو وزمن التضاعف لفصل الربيع لطحلب *C. fracta*

ج . معدل النمو وزمن التضاعف لفصل الخريف لطحلب *C. frakta*



ح . معدل النمو وزمن التضاعف لفصل الصيف لطحلب *C. fracta*

الشكل 10 . معدل النمو وزمن التضاعف لطحالب الكلايدوفورا خلال مواسم النمو وتحت تأثير معاملات الإكثار المختلفة.

الجدول 20 . تأثير الظروف البيئية والتغذية في المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية لطحلب

*C.crispata*

| المعاملة | الفصل | نتروجين معدني، من دون ضخ هواء | نتروجين عضوي، من دون ضخ هواء | نتروجين معدني، ضخ هواء | نتروجين عضوي، ضخ هواء |
|----------|-------|-------------------------------|------------------------------|------------------------|-----------------------|
| co       | ٣     | 46±0.37a<br>T                 | 46±0.37a<br>S                | 46.25±0.21a<br>U       | 46.24±0.21a<br>T      |
| M1       |       | 54.88±0.73b<br>KL             | 55.25±0.37b<br>L             | 55.62±0.74b<br>O       | 56.73±0.73a<br>M      |
| M2       |       | 53.77±0.74b<br>M              | 54.14±0.73b<br>M             | 54.51±0.37b<br>P       | 55.62±1.1a<br>N       |
| M3       |       | 52.66±0.37b<br>N              | 53.03±0.37b<br>N             | 53.4±0.37b<br>Q        | 54.51±1.1a<br>O       |
| N1       |       | 51.55±0.73b<br>O              | 51.92±0.73b<br>O             | 52.29±0.74b<br>R       | 53.4±0.74a<br>P       |
| N2       |       | 50.44±0.37b<br>PQ             | 50.81±0.37b<br>P             | 50.81±0.37b<br>RS      | 52.29±1.1a<br>Q       |
| N3       |       | 49.7±0.37b<br>Q               | 50.07±0.37b<br>P             | 50.44±0.37b<br>S       | 51.18±0.74a<br>R      |
| O1       |       | 48.59±0.37b<br>R              | 48.96±0.37b<br>Q             | 50.07±0.37a<br>S       | 50.81±0.37a<br>R      |
| O2       |       | 48.22±0.37b<br>RS             | 48.59±0.37b<br>QR            | 49.7±0.37a<br>ST       | 50.44±0.37a<br>R      |
| O3       |       | 47.48±0.37b<br>S              | 47.85±0.37ab<br>R            | 48.84±0.21a<br>T       | 49.33±0.37a<br>S      |
| co       | ٤     | 64.0±0.21a<br>E               | 64.0±0.21a<br>G              | 64.5±0.74a<br>I        | 64.5±0.74a<br>J       |
| M1       |       | 68.57±1.1c<br>C               | 71.16±1.1b<br>C              | 71.16±1.1b<br>C        | 73.01±1.1a<br>C       |
| M2       |       | 70.79±1.1c<br>B               | 73.38±1.1b<br>B              | 72.27±1.1b<br>B        | 74.12±1.1a<br>B       |
| M3       |       | 74.12±1.1a<br>A               | 74.49±1.1a<br>A              | 74.86±1.1a<br>A        | 75.23±1.1a<br>A       |
| N1       |       | 63.76±0.74d<br>EF             | 66.72±0.74c<br>F             | 68.57±0.74b<br>F       | 69.68±1.1a<br>F       |
| N2       |       | 65.98±0.74c<br>D              | 69.31±1.1b<br>D              | 69.68±1.1b<br>DE       | 70.79±1.1a<br>E       |

|                   |                   |                   |                   |     |    |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----|----|
| 71.9±1.1a<br>D    | 70.05±1.1b<br>D   | 70.05±1.1b<br>D   | 67.09±0.74c<br>CD |     | N3 |
| 67.83±0.74a<br>H  | 66.72±0.74b<br>GH | 65.98±0.37b<br>F  | 62.65±0.37c<br>G  |     | O1 |
| 68.2±0.37a<br>H   | 67.09±0.37b<br>G  | 65.98±1.1c<br>F   | 63.02±0.37d<br>FG |     | O2 |
| 68.57±0.74a<br>GH | 67.46±0.74b<br>G  | 66.35±0.37c<br>F  | 63.39±0.37d<br>FG |     | O3 |
| 50.07±0.37a<br>R  | 50.07±0.37a<br>S  | 49.60±0.21a<br>P  | 49.60±0.21a<br>PQ | ١.٣ | co |
| 68.94±1.1a<br>GH  | 65.24±1.1b<br>H   | 63.76±1.1c<br>G   | 60.8±0.74d<br>H   |     | M1 |
| 69.31±1.1a<br>G   | 66.72±1.1b<br>GH  | 65.61±1.1c<br>F   | 63.76±0.74d<br>EF |     | M2 |
| 70.42±1.1a<br>EF  | 68.94±1.1b<br>EF  | 67.83±1.1c<br>E   | 66.72±1.1d<br>D   |     | M3 |
| 61.17±0.74a<br>K  | 58.58±0.73b<br>L  | 58.58±0.73b<br>J  | 55.62±0.37c<br>K  |     | N1 |
| 63.76±1.1a<br>J   | 60.06±0.74b<br>K  | 60.06±0.74b<br>I  | 57.47±0.37c<br>J  |     | N2 |
| 65.24±1.1a<br>I   | 62.65±1.1b<br>J   | 61.54±1.1c<br>H   | 58.95±0.74d<br>I  |     | N3 |
| 57.47±0.74a<br>LM | 55.99±0.74b<br>NO | 54.88±0.73c<br>LM | 51.18±0.37d<br>OP |     | O1 |
| 58.21±0.74a<br>L  | 56.73±0.74b<br>MN | 56.36±0.74b<br>K  | 52.66±0.37c<br>N  |     | O2 |
| 59.69±0.74a<br>K  | 57.47±0.73b<br>M  | 57.1±0.73b<br>K   | 54.14±0.37c<br>LM |     | O3 |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 21 . تأثير الظروف البيئية والتغذية في المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية لطحلب

*C.fracta*

| المعاملة | الفصل | نتروجين معدني، من دون ضخ هواء | نتروجين عضوي، من دون ضخ هواء | نتروجين معدني مع ضخ هواء | نتروجين عضوي مع ضخ هواء |
|----------|-------|-------------------------------|------------------------------|--------------------------|-------------------------|
| co       | ٣     | 45.14±0.21b                   | 45.14±0.21b                  | 46.24±0.21a              | 46.24±0.21a             |
| M1       |       | 54.14±0.21 b                  | 54.51±0.74b                  | 55.99±0.37a              | 56.36±0.37a             |
| M2       |       | 53.03±0.37b                   | 53.4±0.74b                   | 54.88±0.74a              | 55.25±0.74a             |
| M3       |       | 51.92±0.73b                   | 52.29±0.73b                  | 53.77±0.74a              | 54.14±0.74a             |
| N1       |       | 50.81±0.37b                   | 51.18±0.37b                  | 52.66±0.74a              | 53.03±0.74a             |
| N2       |       | 49.7±1.1b                     | 50.07±0.37b                  | 51.55±0.74a              | 51.92±0.37a             |
| N3       |       | 49.33±1.1b                    | 50.07±1.1b                   | 51.18±0.73a              | 51.55±0.73a             |
| O1       |       | 48.96±0.74b                   | 49.7±0.74b                   | 50.44±0.37ab             | 51.18±0.37a             |
| O2       |       | 48.22±0.37b                   | 48.59±0.74b                  | 50.07±0.74a              | 50.44±1.1a              |
| O3       |       | 47.85±1.1b                    | 48.22±1.1b                   | 49.33±0.74a              | 49.7±0.74a              |
| co       | ٤     | 63.27±0.21b                   | 63.27±0.21b                  | 64±0.21a                 | 64±0.21a                |
| M1       |       | 66.35±1.1c                    | 68.2±1.1b                    | 68.2±1.1b                | 71.53±0.74a             |
| M2       |       | 68.94±1.1b                    | 69.31±1.1b                   | 69.68±0.74b              | 73.01±1.1a              |
| M3       |       | 72.64±0.74b                   | 73.01±0.73b                  | 73.75±0.74ab             | 74.49±1.1a              |
| N1       |       | 60.06±0.37d                   | 61.17±1.1c                   | 63.39±0.73b              | 65.24±0.74a             |
| N2       |       | 63.76±0.74b                   | 63.39±0.74b                  | 65.98±1.1a               | 66.72±1.1a              |
| N3       |       | 65.24±1.1c                    | 65.24±1.1c                   | 67.83±1.1b               | 70.42±1.1a              |
| O1       |       | 55.62±0.73c                   | 57.84±0.73b                  | 61.17±0.74a              | 61.17±0.74a             |
| O2       |       | 56.36±0.37c                   | 58.21±0.37b                  | 61.54±0.74a              | 61.91±0.74a             |
| O3       |       | 58.58±0.74b                   | 58.95±0.74b                  | 64.13±1.1a               | 63.39±1.1a              |
| co       |       | 48.84±0.21a                   | 48.84±0.21a                  | 49.58±0.21a              | 49.58±0.21a             |
|          |       | PQ                            | Q                            | O                        | S                       |

|                   |                  |                   |                   |         |    |
|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|---------|----|
| 65.98±1.1a<br>G   | 60.06±0.74b<br>G | 60.8±0.74b<br>G   | 55.25±0.73c<br>J  | النتائج | M1 |
| 67.09±1.1a<br>F   | 64.13±1.1b<br>E  | 61.91±1.1c<br>F   | 58.21±0.37d<br>H  |         | M2 |
| 68.94±1.1a<br>E   | 66.72±1.1b<br>D  | 64.87±0.74c<br>D  | 61.54±0.74d<br>F  |         | M3 |
| 61.17±0.74a<br>IJ | 57.1±0.73b<br>H  | 55.62±0.37c<br>KL | 49.7±0.37d<br>OP  |         | N1 |
| 61.91±1.1a<br>I   | 58.95±0.74b<br>J | 55.99±0.74c<br>K  | 50.44±0.74d<br>NO |         | N2 |
| 63.39±0.74a<br>H  | 60.06±0.74b<br>G | 57.1±0.37c<br>J   | 53.03±0.37d<br>L  |         | N3 |
| 57.84±0.74a<br>L  | 52.66±0.74b<br>L | 52.66±0.37b<br>N  | 44.89±0.37c<br>S  |         | O1 |
| 58.58±1.1a<br>KL  | 53.77±0.73b<br>K | 53.77±0.73b<br>MN | 45.63±0.37c<br>S  |         | O2 |
| 59.32±1.1a<br>JK  | 56.36±1.1b<br>HI | 54.88±0.37c<br>LM | 47.11±0.37d<br>R  |         | O3 |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

### 3-4-4 - نتائج علاقة الارتباط بين العوامل المستقلة والمحتوى من الكربوهيدرات لطحالب النوعين C.

#### *C. frakta* و *crispata*

تُعزى الفروق من حيث المحتوى من الكربوهيدرات إلى اختلاف مكونات وسط نمو الطحلب من حيث المغذيات (نسبة النتروجين إلى الفوسفات N:P) واختلاف درجة حرارة فصل النمو، مدة الإضاءة وشدها أيضاً وقد تأكد ذلك إحصائياً، إذ حُسب معامل الانحدار الخطي لقيمة الكربوهيدرات على أساس العامل المستقل وهو نسبة النتروجين إلى الفوسفات N:P درجة الحرارة، مدة الإضاءة وشدها، كما هو مبين في المعادلة 2، والنتائج موضحة في الجدول 22.

$$Y = aX + b \quad (2)$$

y : العامل التابع

a: ميل معامل الانحدار

X: العامل المستقل

b : ثابت الانحدار

الجدول 22. معامل الانحدار الخطي البسيط للمحتوى الكربوهيدراتي على أساس العامل المستقل نسبة النتروجين : الفوسفات، درجة الحرارة، مدة الإضاءة وشدها.

| <i>C. fracta</i> |          |         |        |                | ظروف التجربة                      | <i>C. crispata</i> |          |        |        |                | ظروف التجربة                      |
|------------------|----------|---------|--------|----------------|-----------------------------------|--------------------|----------|--------|--------|----------------|-----------------------------------|
| معامل            | معامل    | ميل     | ثابت   | العامل المستقل |                                   | معامل              | معامل    | ميل    | ثابت   | العامل المستقل |                                   |
| التحديد          | الارتباط |         |        |                |                                   | التحديد            | الارتباط |        |        |                |                                   |
| 0.19             | 0.44     | 0.0-11  | 0.61   | نسبة N:P       | النتروجين معدني<br>من دون ضخ هواء | 0.17               | 0.41     | -0.011 | 0.64   | نسبة N:P       | النتروجين معدني<br>من دون ضخ هواء |
| 0.61             | 0.78     | 0.02    | -0.087 | درجة الحرارة   |                                   | 0.74               | 0.86     | 0.025  | -0.19  | درجة الحرارة   |                                   |
| 0.30             | 0.54     | 0.003   | 0.08   | مدة الإضاءة    |                                   | 0.09               | 0.30     | 0.022  | 0.3    | مدة الإضاءة    |                                   |
| 0.39             | 0.62     | 0.002   | 0.39   | شدة الإضاءة    |                                   | 0.74               | 0.86     | 0.003  | 0.345  | شدة الإضاءة    |                                   |
| 0.22             | 0.47     | -0.02   | 0.63   | نسبة N:P       | النتروجين عضوي<br>بدون ضخ هواء    | 0.15               | 0.39     | -0.011 | 0.65   | نسبة N:P       | النتروجين عضوي<br>من دون ضخ هواء  |
| 0.61             | 0.78     | 0.02    | -0.02  | درجة الحرارة   |                                   | 0.73               | 0.86     | 0.024  | -0.18  | درجة الحرارة   |                                   |
| 0.08             | 0.30     | 0.018   | 0.33   | مدة الإضاءة    |                                   | 0.09               | 0.30     | 0.022  | 0.3    | مدة الإضاءة    |                                   |
| 0.59             | 0.77     | 0.002   | 0.39   | شدة الإضاءة    |                                   | 0.73               | 0.85     | .003   | 0.35   | شدة الإضاءة    |                                   |
| 0.18             | 0.42     | -0.0105 | 0.64   | نسبة N:P       | النتروجين معدني مع ضخ هواء        | 0.15               | 0.38     | -0.011 | 0.66   | نسبة N:P       | النتروجين معدني مع ضخ هواء        |
| 0.66             | 0.81     | 0.02    | -0.04  | درجة الحرارة   |                                   | 0.73               | 0.85     | 0.024  | -0.17  | درجة الحرارة   |                                   |
| 0.10             | 0.33     | 0.02    | 0.31   | مدة الإضاءة    |                                   | 0.08               | 0.29     | 0.02   | 0.32   | مدة الإضاءة    |                                   |
| 0.62             | 0.79     | 0.002   | 0.39   | شدة الإضاءة    |                                   | 0.73               | 0.85     | 0.003  | 0.36   | شدة الإضاءة    |                                   |
| 0.22             | 0.47     | -0.012  | 0.67   | نسبة N:P       | النتروجين عضوي مع ضخ هواء         | 0.18               | 0.42     | -0.012 | 0.68   | نسبة N:P       | النتروجين عضوي مع ضخ هواء         |
| 0.57             | 0.75     | 0.02    | -0.03  | درجة الحرارة   |                                   | 0.66               | 0.81     | 0.024  | -0.155 | درجة الحرارة   |                                   |
| 0.02             | 0.16     | 0.01    | 0.45   | مدة الإضاءة    |                                   | 0.05               | 0.22     | 0.02   | 0.39   | مدة الإضاءة    |                                   |
| 0.66             | 0.81     | 0.003   | 0.39   | شدة الإضاءة    |                                   | 0.73               | 0.85     | 0.003  | 0.36   | شدة الإضاءة    |                                   |

في جميع المعاملات وجد أن قيمة  $p$ -value لمعلمة ميل الانحدار الخطي البسيط للمتغير المستقل أصغر من 0.01 وبالتالي يمكننا رفض فرضية العدم وقبول الفرضية البديلة والتي تقول أن العامل المستقل يؤثر بشكل معنوي في العامل التابع، كما وجد أن قيمة معامل  $F$ -value لنموذج الانحدار الخطي البسيط أصغر من  $F$  الجدولية وهذا يشير إلى إمكانية استخدام نموذج الانحدار الخطي البسيط لشرح تغيرات المتغير التابع. ويُلاحظ من الجدول 22 أن قيمة ميل معادلة الانحدار لمحتوى السكريات للطحالب على أساس العامل المستقل هو نسبة  $P: N$  كانت سالبة أي أن هنالك علاقة طردية سالبة بين المتغير المستقل والمتغير التابع. تعتبر قيمة معامل التحديد مقياساً لجودة تفسير النموذج، حيث تشير جميع قيم معامل التحديد إلى أن العلاقة بين العامل المستقل والمكون الغذائي المدروس غير ملائمة لغرض دراسة الانحدار بين العامل المستقل والعامل التابع حيث تراوحت قيمة معامل التحديد  $R^2$  بين 0.15 حتى 0.22، فمثلاً في المعاملات التي استعمل معها مصدر نتروجين معدني وضخ هواء (*C. crispata*) تشرح قيمة ميل مستقيم الانحدار المتحصل عليها عند حساب معادلة الانحدار الخطي بين نسبة النتروجين: الفوسفات والمحتوى من السكريات الكلية  $R^2=0.15$  تشرح 15% من التغيرات في قيم العامل التابع وترجع 85% من التغيرات إلى العوامل الأخرى، أما قيمة معامل الارتباط  $r$  فقد تراوحت بين 0.38 حتى 0.47 وكانت إيجابية و ذات دلالة إحصائية عند مستوى معنوية 0.01 بين العامل المستقل والعامل التابع.

ويُلاحظ من الجدول السابق أن قيمة ميل معادلة الانحدار الخطي البسيط لمحتوى السكريات للطحالب على أساس العامل المستقل هو درجة الحرارة كانت إيجابية أي أن هنالك علاقة طردية إيجابية بين المتغير المستقل والمتغير التابع، وبالتالي يمكن استعمال هذه القيمة للتنبؤ بقيمة المحتوى الكربوهيدراتي، فمثلاً إن قيمة معلمة ميل معادلة الانحدار الخطي البسيط في المعاملات التي استعمل معها مصدر نتروجين عضوي وظروف ضخ هواء (*C. crispata*) كانت 0.024 حيث أن زيادة قيمة درجة الحرارة بمقدار درجة مئوية واحدة تؤدي إلى زيادة قيمة المحتوى الكربوهيدراتي بمقدار 2.4%. كما تشير جميع قيم معامل التحديد إلى أن العلاقة بين العامل المستقل والمكون الغذائي المدروس ملائمة لغرض دراسة الانحدار بين العامل المستقل والعامل التابع، أما قيمة معامل الارتباط فتشير إلى علاقة إيجابية دالة إحصائياً عند مستوى معنوية 0.01 بين العامل المستقل والعامل التابع.

ويُلاحظ من الجدول 22 أن قيمة ميل معادلة الانحدار الخطي البسيط لمحتوى السكريات للطحالب على أساس العامل المستقل هو مدة الإضاءة كانت إيجابية أي أن هنالك علاقة طردية إيجابية بين المتغير المستقل والمتغير التابع تشير جميع قيم معامل التحديد إلى أن العلاقة بين العامل المستقل والمكون الغذائي المدروس غير ملائمة لغرض دراسة الانحدار بين العامل المستقل والعامل التابع حيث تراوحت قيمة معامل التحديد  $R^2$  بين 0.02 حتى 0.30، فمثلاً في المعاملات التي استعمل معها مصدر نتروجين عضوي وبدون ضخ هواء (*C. fracta*) تشرح قيمة ميل مستقيم الانحدار المتحصل عليها عند حساب معادلة الانحدار الخطي بين نسبة مدة الإضاءة والمحتوى من السكريات الكلية  $R^2=0.08$  تشرح فقط 8% من التغيرات في قيم العامل التابع وترجع 92% من التغيرات إلى العوامل الأخرى، أما قيمة معامل الارتباط  $r$  فقد تراوحت بين 0.16 حتى 0.50 فتشير إلى علاقة إيجابية دالة إحصائياً عند مستوى معنوية 0.01 بين العامل المستقل والعامل التابع.

ويُلاحظ من الجدول السابق أن قيمة ميل معادلة الانحدار الخطي البسيط لمحتوى السكريات للطحالب على أساس العامل المستقل هو شدة الإضاءة كانت إيجابية أي أن هنالك علاقة طردية إيجابية بين المتغير المستقل والمتغير التابع. تشير جميع قيم معامل التحديد إلى أن العلاقة بين العامل المستقل والمكون الغذائي المدروس ملائمة لغرض دراسة الانحدار بين العامل المستقل والعامل التابع حيث تراوحت قيمة معامل التحديد  $R^2$  بين 0.39 حتى 0.74، فمثلاً في المعاملات التي استعمل معها مصدر نتروجين معدني وبدون ضخ هواء (*C. fracta*) تشرح قيمة ميل مستقيم الانحدار المتحصل عليها عند حساب معادلة الانحدار الخطي بين نسبة شدة الإضاءة والمحتوى من السكريات الكلية  $R^2 = 0.39$  تشرح 39% من التغيرات في قيم العامل التابع وترجع 61% من التغيرات إلى العوامل الأخرى، أما قيمة معامل الارتباط  $r$  فقد تراوحت بين 0.41 حتى 0.85 فتشير إلى علاقة إيجابية دالة إحصائياً عند مستوى معنوية 0.01 بين العامل المستقل والعامل التابع (حميدان وآخرون، 2006، 326، ديب، 2018، 126-129).

وتبين نتائج التحليل الإحصائي التأثير المشترك للعوامل المستقلة في المحتوى الكربوهيدراتي، إذ لا يوجد عامل مستقل أثر بمفرده في المحتوى الكربوهيدراتي للكتلة الحيوية للطحلب، مع الإشارة إلى ملائمة درجة حرارة الماء وشدة الإضاءة خلال مدة الدراسة كعوامل مستقلة أثرت في المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية للطحالب.

### 3-5- نتائج أمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي بالأمواج فوق الصوتية (بالطرائق التجريبية)

أجريت دراسة العوامل المؤثرة في المردود من عديد السكاريد الكبريتي مثل نوع المذيب، نسبة المذيب إلى الطحلب الجاف، درجة حرارة الاستخلاص وزمنه، وعملت طريقة الاستخلاص المتعاقب التالية للمعاملة بالأمواج فوق الصوتية على زيادة النوعية والكمية لعدد السكاريد الكبريتي، وهي مفيدة للغاية لاسيما في حال كون محتوى المادة الخام قليلاً من المواد الفعالة بغرض تحسين المردود (Ramadan et al., 2018, 1135). ونعرض فيما يلي العوامل المؤثرة في عملية أمثلة استخلاص عديد السكاريد

#### 1 - تأثير نسبة الطحلب الجاف: المذيب في المردود من عديد السكاريد الكبريتي

وجد بالتجريب (الجدول 23 - 30) أن نسبة الطحلب الجاف : المذيب 1:30 أعطت أعلى نسبة من المردود ويتفق ذلك مع بحث آخر (ying et al., 2011, 1275 - 1276)، ويعلل ذلك بحقيقة مفادها بأن منطقة الاتصال بين الطحلب الجاف والمذيب تزداد بازدياد نسبة الطحلب الجاف : المذيب ويؤدي إلى حصول أعلى انتشار لعدد السكاريد الكبريتي ضمن المذيب، لكن تنتشت مقدرة الأمواج فوق الصوتية على استخلاص عديد السكاريد الكبريتي عند ارتفاع نسبة الطحلب الجاف : المذيب فوق 1:30، حيث تطول المسافة التي تقطعها الأمواج فوق الصوتية للوصول إلى جدار خلية نوعي الطحالب (ying et al., 2011, 1275 - 1276).

الجدول 23. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الماء كمذيب استخلاص لطحلب *C. crispata*

| نسبة الطحلب الجاف<br>: المذيب غ/مل | زمن الاستخلاص د.              |                                |                                 | درجة الحرارة |
|------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------|
|                                    | 120                           | 75                             | 30                              |              |
| 20:1                               | 2.68±0.0002 <sup>a</sup><br>C | 3.1±0.0002 <sup>a</sup><br>C   | 3.6±0.0002 <sup>a</sup><br>C    | 40 °م        |
| 30:1                               | 7.0±0.00002 <sup>a</sup><br>A | 5.8±0.0004 <sup>b</sup><br>B   | 4.7±0.0004 <sup>c</sup><br>BC   |              |
| 40:1                               | 2.5±0.001 <sup>b</sup><br>C   | 2.74±0.0004 <sup>b</sup><br>C  | 4.0±0.0004 <sup>a</sup><br>C    |              |
| 20:1                               | 5.8±0.0004 <sup>a</sup><br>B  | 5.5±0.001 <sup>a</sup><br>B    | 5.3±0.0004 <sup>a</sup><br>B    | 60 °م        |
| 30:1                               | 7.14±0.0004 <sup>a</sup><br>A | 6.95±0.00011 <sup>a</sup><br>A | 6.25±0.00004 <sup>a</sup><br>AB |              |
| 40:1                               | 5.3±0.0004 <sup>a</sup><br>B  | 5.8±0.0004 <sup>a</sup><br>B   | 6.25±0.00004 <sup>a</sup><br>AB |              |
| 20:1                               | 6.8±0.0002 <sup>a</sup><br>A  | 6.8±0.0002 <sup>a</sup><br>A   | 6.8±0.0001 <sup>a</sup><br>A    | 80 °م        |
| 30:1                               | 7.0±0.002 <sup>a</sup><br>A   | 6.86±0.0002 <sup>ab</sup><br>A | 6.0±0.001 <sup>b</sup><br>AB    |              |
| 40:1                               | 3.0±0.0002 <sup>a</sup><br>C  | 3.4±0.0002 <sup>a</sup><br>C   | 3.24±0.0004 <sup>a</sup><br>C   |              |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 24. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الماء كمذيب استخلاص لطحلب *C.fracta*

| زمن الاستخلاص د.           |                            |                          | نسبة الطحلب<br>الجاف: المذيب<br>غ/مل | درجة الحرارة |
|----------------------------|----------------------------|--------------------------|--------------------------------------|--------------|
| 120                        | 75                         | 30                       |                                      |              |
| $2.5 \pm 0.0002^a$<br>C    | $2.66 \pm 0.0002^a$<br>B   | $3.1 \pm 0.0002^a$<br>D  | 20:1                                 | 40 °م        |
| $6.26 \pm 0.00002^a$<br>AB | $5.3 \pm 0.0004^{ab}$<br>A | $4.7 \pm 0.0004^b$<br>C  | 30:1                                 |              |
| $2.3 \pm 0.001^b$<br>C     | $2.5 \pm 0.0004^b$<br>B    | $3.6 \pm 0.0004^a$<br>D  | 40:1                                 |              |
| $5.5 \pm 0.0004^a$<br>A    | $5.3 \pm 0.001^a$<br>A     | $5.0 \pm 0.0004^a$<br>BC | 20:1                                 | 60 °م        |
| $6.96 \pm 0.0004^a$<br>A   | $6.26 \pm 0.00011^a$<br>A  | $5.8 \pm 0.00004^a$<br>A | 30:1                                 |              |
| $5.3 \pm 0.0004^a$<br>A    | $5.8 \pm 0.0004^a$<br>A    | $6.0 \pm 0.00004^a$<br>A | 40:1                                 |              |
| $6.16 \pm 0.0002^a$<br>AB  | $6.16 \pm 0.0002^a$<br>A   | $6.26 \pm 0.0001^a$<br>A | 20:1                                 | 80 °م        |
| $6.0 \pm 0.002^a$<br>AB    | $6.0 \pm 0.0002^a$<br>A    | $5.8 \pm 0.001^a$<br>AB  | 30:1                                 |              |
| $3.0 \pm 0.0002^a$<br>C    | $3.26 \pm 0.0002^a$<br>B   | $3.1 \pm 0.0004^a$<br>D  | 40:1                                 |              |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 25. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس المتانول 70% كمذيب استخلاص لطحلب

*C.crispata*

| درجة الحرارة | نسبة الطحلب<br>الجاف: المذيب<br>غ/مل | زمن الاستخلاص.د               |                                |                                |
|--------------|--------------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|              |                                      | 30                            | 75                             | 120                            |
| 40 °م        | 20:1                                 | 3.0 ±0.005 <sup>a</sup><br>C  | 3.1± 0.001 <sup>a</sup><br>CD  | 2.66 ±0.005 <sup>a</sup><br>BC |
|              | 30:1                                 | 3.2±0.003 <sup>a</sup><br>CD  | 3.2±0.003 <sup>a</sup><br>CD   | 3.2±0.003 <sup>a</sup><br>B    |
|              | 40:1                                 | 2.6± 0.00 <sup>a</sup><br>D   | 2.5± 0.001 <sup>a</sup><br>DE  | 2.3± 0.001 <sup>a</sup><br>BC  |
| 60 °م        | 20:1                                 | 4.7 ±0.004 <sup>a</sup><br>AB | 4.0 ±0.004 <sup>ab</sup><br>BC | 3.26± 0.005 <sup>b</sup><br>B  |
|              | 30:1                                 | 5.6±0.002 <sup>b</sup><br>A   | 6.3±0.005 <sup>ab</sup><br>A   | 7±0.001 <sup>a</sup><br>A      |
|              | 40:1                                 | 3.4± 0.002 <sup>a</sup><br>CD | 3.20±0.001 <sup>a</sup><br>CD  | 3.0± 0.001 <sup>a</sup><br>B   |
| 80 °م        | 20:1                                 | 2.68± 0.002 <sup>a</sup><br>D | 2.4 ±0.02 <sup>a</sup><br>DE   | 2.0± 0.002 <sup>a</sup><br>C   |
|              | 30:1                                 | 4.6±0.001 <sup>b</sup><br>B   | 6.8±0.005 <sup>a</sup><br>A    | 6.8±0.002 <sup>a</sup><br>A    |
|              | 40:1                                 | 2.3± 0.001 <sup>a</sup><br>D  | 2.0± 0.002 <sup>a</sup><br>E   | 2.0± 0.002 <sup>a</sup><br>C   |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 26. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس المتانول 70% كمذيب استخلاص لطحلب

*C.fracta*

| زمن الاستخلاص.د             |                              |                               | نسبة الطحلب<br>الجاف: المذيب<br>غ/مل | درجة الحرارة |
|-----------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|--------------|
| 120                         | 75                           | 30                            |                                      |              |
| 2.0±0.002 <sup>a</sup><br>C | 2.8±0.001 <sup>a</sup><br>CD | 2.8±0.001 <sup>a</sup><br>CD  | 20:1                                 | 40 °م        |
| 3.0±0.005 <sup>a</sup><br>B | 3.0±0.002 <sup>a</sup><br>C  | 3.0±0.005 <sup>a</sup><br>C   | 30:1                                 |              |
| 2.0±0.003 <sup>a</sup><br>C | 2.0±0.005 <sup>a</sup><br>D  | 2.0±0.002 <sup>a</sup><br>D   | 40:1                                 |              |
| 3.0±0.001 <sup>b</sup><br>B | 4.0±0.005 <sup>a</sup><br>B  | 4.0±0.003 <sup>a</sup><br>B   | 20:1                                 | 60 °م        |
| 6.2±0.002 <sup>a</sup><br>A | 5.3±0.003 <sup>ab</sup><br>A | 5.0±0.002 <sup>b</sup><br>A   | 30:1                                 |              |
| 3.0±0.002 <sup>a</sup><br>B | 3.0±0.001 <sup>a</sup><br>C  | 3.4±0.002 <sup>a</sup><br>BC  | 40:1                                 |              |
| 2.0±0.001 <sup>a</sup><br>C | 2.4±0.002 <sup>a</sup><br>CD | 2.68±0.001 <sup>a</sup><br>CD | 20:1                                 | 80 °م        |
| 5.8±0.001 <sup>a</sup><br>A | 6.0±0.002 <sup>a</sup><br>A  | 4.0±0.005 <sup>b</sup><br>B   | 30:1                                 |              |
| 1.8±0.005 <sup>a</sup><br>C | 2.0±0.001 <sup>a</sup><br>D  | 2.0±0.002 <sup>a</sup><br>D   | 40:1                                 |              |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 27. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الإيتانول 70% كمذيب استخلاص لطحلب

*C.crispata*

| زمن الاستخلاص.د         |                          |                            | نسبة الطحلب<br>الجاف: المذيب<br>غ/مل | درجة الحرارة |
|-------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------------------|--------------|
| 120                     | 75                       | 30                         |                                      |              |
| $2.3 \pm 0.002^a$<br>AB | $3.1 \pm 0.001^a$<br>DE  | $3.0 \pm 0.005^a$<br>C     | 20:1                                 | 40 °م        |
| $3 \pm 0.005^b$<br>A    | $4 \pm 0.003^a$<br>CD    | $3.5 \pm 0.001^{ab}$<br>BC | 30:1                                 |              |
| $2 \pm 0.005^a$<br>B    | $2.5 \pm 0.001^a$<br>E   | $2.5 \pm 0.002^a$<br>CD    | 40:1                                 |              |
| $3.26 \pm 0.005^b$<br>A | $4.7 \pm 0.004^a$<br>BC  | $4.0 \pm 0.004^{ab}$<br>B  | 20:1                                 | 60 °م        |
| $3.4 \pm 0.001^b$<br>A  | $6 \pm 0.005^a$<br>A     | $5.3 \pm 0.003^a$<br>A     | 30:1                                 |              |
| $3.0 \pm 0.005^a$<br>A  | $3.40 \pm 0.001^a$<br>DE | $3.2 \pm 0.002^a$<br>BC    | 40:1                                 |              |
| $2.9 \pm 0.005^a$<br>AB | $2.4 \pm 0.002^a$<br>EF  | $2.0 \pm 0.002^a$<br>D     | 20:1                                 | 80 °م        |
| $3.3 \pm 0.001^b$<br>A  | $5 \pm 0.005^a$<br>B     | $3 \pm 0.002^b$<br>C       | 30:1                                 |              |
| $2 \pm 0.002^a$<br>B    | $2 \pm 0.002^a$<br>F     | $2.0 \pm 0.001^a$<br>D     | 40:1                                 |              |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 28. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الإيثانول 70 % كمذيب استخلاص لطحلب

*C.fracta*

| زمن الاستخلاص.د                |                               |                               | نسبة الطحلب<br>الجاف: المذيب<br>غ/مل | درجة الحرارة |
|--------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------------|--------------|
| 120                            | 75                            | 30                            |                                      |              |
| 2.66±0.005 <sup>a</sup><br>BC  | 3.1±0.001 <sup>a</sup><br>D   | 3.0±0.002 <sup>a</sup><br>B   | 20:1                                 | 40 م°        |
| 3.0±0.002 <sup>a</sup><br>AB   | 3.59±0.001 <sup>a</sup><br>CD | 3.30±0.005 <sup>a</sup><br>AB | 30:1                                 |              |
| 2.3±0.001 <sup>a</sup><br>BC   | 2.5±0.001 <sup>a</sup><br>DE  | 2.6 ±0.003 <sup>a</sup><br>B  | 40:1                                 |              |
| 3.26±0.005 <sup>ab</sup><br>AB | 4.0±0.004 <sup>a</sup><br>BC  | 2.6±0.005 <sup>b</sup><br>B   | 20:1                                 | 60 م°        |
| 3.8±0.001 <sup>b</sup><br>A    | 5.0±0.005 <sup>a</sup><br>A   | 4.3±0.002 <sup>ab</sup><br>A  | 30:1                                 |              |
| 3.0±0.005 <sup>a</sup><br>AB   | 3.20±0.001 <sup>a</sup><br>D  | 3.4±0.002 <sup>a</sup><br>AB  | 40:1                                 |              |
| 2.0±0.001 <sup>a</sup><br>C    | 2.4±0.005 <sup>a</sup><br>DE  | 2.68±0.002 <sup>a</sup><br>B  | 20:1                                 | 80 م°        |
| 2.5±0.001 <sup>b</sup><br>BC   | 4.7±0.005 <sup>a</sup><br>AB  | 2.74±0.004 <sup>b</sup><br>B  | 30:1                                 |              |
| 2.0±0.005 <sup>a</sup><br>C    | 2.0±0.002 <sup>a</sup><br>E   | 2.3±0.001 <sup>a</sup><br>B   | 40:1                                 |              |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 29. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الأسيتون 70% كمذيب استخلاص لطحلب

*C.crispata*

| درجة الحرارة | نسبة الطحلب<br>الجاف: المذيب<br>غ/مل | زمن الاستخلاص.د              |                              |                              |
|--------------|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|              |                                      | 30                           | 75                           | 120                          |
| 40 م°        | 20:1                                 | 3.0±0.005 <sup>c</sup><br>C  | 5.0±0.002 <sup>b</sup><br>B  | 6.1±0.001 <sup>a</sup><br>B  |
|              | 30:1                                 | 4.0±0.001 <sup>c</sup><br>B  | 7.6±0.005 <sup>b</sup><br>A  | 13±0.002 <sup>a</sup><br>A   |
|              | 40:1                                 | 2.6 ±0.002 <sup>c</sup><br>C | 5.1±0.005 <sup>a</sup><br>B  | 4.1±0.005 <sup>b</sup><br>C  |
| 60 م°        | 20:1                                 | 4.7±0.004 <sup>a</sup><br>AB | 4.0±0.004 <sup>a</sup><br>C  | 3.26±0.005 <sup>b</sup><br>D |
|              | 30:1                                 | 5.5±0.001 <sup>a</sup><br>A  | 5.0±0.002 <sup>a</sup><br>B  | 3.4±0.003 <sup>b</sup><br>D  |
|              | 40:1                                 | 3.4±0.002 <sup>a</sup><br>BC | 3.20±0.001 <sup>a</sup><br>C | 2.9±0.004 <sup>a</sup><br>DE |
| 80 م°        | 20:1                                 | 2.9±0.004 <sup>a</sup><br>C  | 2.4±0.002 <sup>a</sup><br>CD | 2.4±0.005 <sup>a</sup><br>DE |
|              | 30:1                                 | 5.3±0.004 <sup>a</sup><br>A  | 4.0±0.004 <sup>b</sup><br>C  | 4.0±0.001 <sup>b</sup><br>CD |
|              | 40:1                                 | 2.3±0.001 <sup>a</sup><br>C  | 2±0.002 <sup>a</sup><br>D    | 2±0.002 <sup>a</sup><br>E    |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 30. المردود (%) من عديد السكاريد الكبريتي على أساس الأسيتون 70% كمذيب استخلاص لطحلب

*C.fracta*

| درجة الحرارة | نسبة الطحلب<br>الجاف: المذيب<br>غ/مل | زمن الاستخلاص د.             |                              |                             |
|--------------|--------------------------------------|------------------------------|------------------------------|-----------------------------|
|              |                                      | 120                          | 75                           | 30                          |
| 40 °م        | 20:1                                 | 5.4±0.001 <sup>a</sup><br>B  | 4.0±0.002 <sup>b</sup><br>B  | 2.7±0.005 <sup>c</sup><br>C |
|              | 30:1                                 | 12.2±0.002 <sup>a</sup><br>A | 6.5±0.001 <sup>b</sup><br>A  | 3.7±0.001 <sup>c</sup><br>B |
|              | 40:1                                 | 3.3 ±0.002 <sup>a</sup><br>C | 4.0 ±0.002 <sup>a</sup><br>B | 2±0.001 <sup>b</sup><br>C   |
| 60 °م        | 20:1                                 | 3.26±0.002 <sup>b</sup><br>C | 4.0±0.003 <sup>ab</sup><br>B | 4.7±0.003 <sup>a</sup><br>A |
|              | 30:1                                 | 3.4±0.001 <sup>b</sup><br>C  | 4.4±0.001 <sup>ab</sup><br>B | 5±0.003 <sup>a</sup><br>A   |
|              | 40:1                                 | 2±0.001 <sup>b</sup><br>D    | 2.6±0.001 <sup>a</sup><br>CD | 3±0.001 <sup>a</sup><br>B   |
| 80 °م        | 20:1                                 | 2 ±0.001 <sup>a</sup><br>D   | 2±0.001 <sup>a</sup><br>DE   | 2±0.001 <sup>a</sup><br>C   |
|              | 30:1                                 | 3.5±0.002 <sup>b</sup><br>C  | 3.5±0.002 <sup>b</sup><br>BC | 4.8±0.003 <sup>a</sup><br>A |
|              | 40:1                                 | 1.5±0.001 <sup>a</sup><br>D  | 1.5±0.001 <sup>a</sup><br>E  | 2±0.001 <sup>a</sup><br>C   |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

## 2- تأثير درجة حرارة الاستخلاص في المردود من عديد السكاريد الكبريتي

تُستخلص عديدات السكاريد من الطحالب حتى درجة حرارة 90 °م، ويعتمد ذلك على طريقة الاستخلاص (Shi et al., 2007, 102). من خلال الجداول من 23 حتى 30 وجد أن لكل مذيب درجة حرارة مثلى لاستخلاص عديد السكاريد الكبريتي، فمثلاً في حالة الماء، للمتانول 70%، للإيتانول 70% كمذيبات استخلاص كانت درجة الحرارة المثلى للاستخلاص 60 °م، وللأسيتون 70% كانت درجة الحرارة المثلى للاستخلاص 40 °م، فقد تبين أن المردود من عملية الاستخلاص لا يتأثر فقط بظروف الاستخلاص وطريقته بل يتأثر أيضاً بالمذيب المستعمل (Ajana et al., 2012, 199; Mahdi-Pour et al., 2012, 967).

### 3- تأثير زمن الاستخلاص في المردود من عديد السكاريد الكبريتي

عندما لا تكون درجة الحرارة المستعملة مناسبة لاستخلاص عديد السكاريد فإن لزيادة زمن الاستخلاص تأثيراً سلبياً في المردود، فعندما تكون درجة الحرارة أعلى من الدرجة المثلى فإنها تعمل على إحداث ضرر حراري على عديد السكاريد (على سبيل المثال استعمال الأسيتون 70 % كمذيب استخلاص، 1:30 مل/غ، 80 م°)، في حين عندما تكون درجة الحرارة أدنى من الدرجة المثلى فيجري على استخلاص مواد أخرى وينخفض المردود من عديد السكاريد الكبريتي مثل استعمال الإيثانول 70%، 1:30 مل/غ، 40 م° في النوع كرسباتا (Ziping et al., 2011, 1092).

### 4- تأثير حرارة الاستخلاص وزمنه في المردود من عديد السكاريد الكبريتي

إن التأثير المشترك لكل من درجة الحرارة وزمن الاستخلاص من أهم العوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من الطحالب (Song et al., 2018, 7)، ويعمل التأثير المشترك لكل من درجة الحرارة المثالية و زمن الاستخلاص المثالي على تحسين تحلل السكريات (Guang et al., 2012, 1782)، فمثلاً المردود من عديد السكاريد الكبريتي في معاملة الماء كمذيب استخلاص، 1:30، 60 م°، 120.د كان الأعلى مقارنة بنفس الظروف وعند زمن استخلاص 75.د كما هو مبين في الجدولين 23 و 24 .

### 5- تأثير نسبة الطحلب الجاف:المذيب وزمن الاستخلاص في المردود من عديد السكاريد الكبريتي

من خلال الجداول 23 - 30 وجد في جميع المعاملات التي استعمل معها أن نسبة المذيب إلى مسحوق الطحلب الجاف 40 : 1 مل/غ، فقد كان ازدياد مدة الاستخلاص غير معنوي في المردود، وتأتي هذه النتائج مطابقة لما توصل إليه ساو وآخرون (Ying et al., 2011, 1276).

### 6- تأثير نسبة الطحلب الجاف : المذيب وحرارة الاستخلاص في المردود من عديد السكاريد الكبريتي

أدى ازدياد النسبة من 1:20 إلى 1:30 مل/غ إلى ارتفاع مردود من عديد السكاريد الكبريتي عند استعمال درجة حرارة استخلاص 40 و 60 م° (الجدول 23 - 30)، وتتطابق هذه النتائج مع دراسة سابقة (Ying et al., 2011, 1275). كما أن تغير النسبة من 1:30 إلى 1:40 مل/غ لم يتصف بدلالة إحصائية عند استعمال درجة حرارة استخلاص 40 و 60 م° في الفترة الأولى للاستخلاص. وكان لارتفاع نسبة المذيب إلى مسحوق الطحلب الجاف إلى 40 : 1 مل/غ تأثير معنوي سلبي عند استعمال درجة حرارة استخلاص 80 م°، ويمكن أن تعزى هذه النتيجة إلى أن منطقة الاتصال بين المادة الخام (مسحوق الطحلب الجاف) والماء تزداد بازدياد نسبة الماء إلى مسحوق الطحلب الجاف، وسببت الذوبان لعديد السكاريد الكبريتي من خلايا الطحلب إلى المذيب، لكنها تضررت بالفعل الحراري (Xu et al., 2011)، مع العلم أن قدرة الأمواج فوق الصوتية على الاستخلاص تنخفض عند استعمال النسب العالية مثل 40 : 1 مل/غ، وينتج عن ذلك انخفاض في المردود بسبب طول المسافة التي يقطعها المذيب تجاه خلايا الطحلب لاستخلاص السكريات (Ying et al., 2011, 1276).

### 7- تأثير مذيب الاستخلاص في المردود من عديد السكاريد الكبريتي

استعمل العديد من المذيبات في استخلاص المركبات ذات الفاعلية الحيوية من الطحالب والثمار لاختلاف قابلية ذوبان كل مادة ضمن المذيبات، ويعتمد ذلك على حجم جزيئات المادة المراد استخلاصها، وطبيعتها وقطبيتها (Truong et al., 2019,2). عندما تكون ظروف الاستخلاص ذاتها في جميع المعاملات فإن نوع المذيب المستعمل هو الذي يكون العامل الحاسم في تباين المردود (Turkmen et al., 2006,715; Van Ngo et al., 2017,6). لوحظ من خلال الجدولين 29 و 30 أن درجة حرارة الاستخلاص 40 م° كان ملائمة لاستخلاص عديد السكاريد الكبريتي إذ أعطت أعلى قيم للمردود عندما كانت ظروف الاستخلاص (1:30، 75 م°، 120. د) عند استعمال الأسيتون 70 % إذ وصل المردود إلى 13%. وتوقع الأسيتون 70% على كل من الماء وبقية المذيبات، وقد اتفقت هذه النتائج مع دراسات سابقة (Archana et al., 2013,91; Andhare et al., 2017,340)، ولا يقتصر هذا الأمر على استخلاص عديدات السكاريد، بل تعداه إلى تفوق الأسيتون على بقية المذيبات أيضاً في إعطاء أعلى مردود من عديدات الفينولات (Makhlouf et al., 2013,671). وأعطى الأسيتون أعلى مردود من عديد السكاريد المنتجة من *Rhizobium sp* وتوقع بذلك على المذيبات الشائعة في الاستخلاص مثل المتانول والإيثانول (Andhare et al., 2017,340). إلا أن ارتفاع درجة حرارة الاستخلاص إلى 60 م° تؤثر سلباً في كفاءة انتزاع عديد السكاريد باستعمال الأسيتون، إذ انخفض المردود إلى 5% بعد الدقيقة 75 من الاستخلاص كما هو مبين في الجدولين 29 و 30. وعند استعمال درجة حرارة استخلاص 60 م° وجد أن أعلى مردود عند استعمال المتانول بسبب تأثير ازدياد أثر مدة الاستخلاص على نحو معنوي في ازدياد المردود ووصلت هذه الزيادة إلى 7% بعد الاستخلاص مدة 120 دقيقة كما هو مبين في الجدولين 25 و 26. ولم يحسن ارتفاع درجة حرارة الاستخلاص إلى 80 م° في المردود، فقد وصل المردود إلى 6.8% بعد 75 دقيقة من الاستخلاص (جدول 25)، كما أن زيادة طول مدة الاستخلاص لم تكن مجدية. ويمكن القول إن استعمال المتانول على درجة حرارة استخلاص 60 م° تفوق على بقية المذيبات ويتفق ذلك مع (Meyer and Terry, 2008,7444)، إذ يكون السكر ذوباً بمقدار 3 أضعاف في المتانول مقارنة ببقية المذيبات (Peres and Macedo, 1997,67)، لكن يمكن ملاحظة أن المتانول تفوق أيضاً على البقية عند 80 م° ويتفق ذلك مع دراسة أخرى (Cui et al., 2014, 357).

### 3-6- العوامل المؤثرة في استخلاص عديدات السكاريد باستعمال منهجية سطح الاستجابة (RSM)

تم تفسير نتائج أمثلة استخلاص عديدات السكاريد باستعمال منهجية سطح الاستجابة عند مستوى معنوية 1%، حيث تم التمييز بين التأثير الخطي، تأثير العوامل المربعة والتأثرات المتداخلة للعوامل المؤثرة في المردود، وتم إفراغ النتائج في الجداول من 31 حتى 34. تبين نتائج أمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي باستعمال منهج سطح الاستجابة وبتصميم بوكس - بنكن نجاح هذا التصميم من أجل هذا الغرض، ويتفق ذلك مع نتائج آخرين (Sun et al., 2010,242).

## 3 - 6 - 1- في حالة استعمال الماء كمذيب استخلاص

أ. التأثير الخطي linear: فلكل عامل بمفرده تأثيره في كمية عديد السكاريد الكبريتي المنتج (المردود)، إذ يحتوي النموذج على ثلاثة متغيرات هي: نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب ودرجة الحرارة وزمن الاستخلاص، ويتضح من الجدول 31 أن قيمة  $p$  لمتغير درجة الحرارة أقل من 0.01؛ فهناك تأثير خطي معنوي لهذا المتغير في المردود من عديدات السكاريد الكبريتية، وليس لكل من متغير معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب ومتغير زمن الاستخلاص تأثير معنوي في المردود؛ لأن قيمة  $p$  أعلى من 0.01؛ وتوضح النتائج في الجدول 31 وجود متغير واحد خطي على الأقل من المتغيرات الثلاثة معنوي لأن قيمة  $p$  كانت أقل من 0.01.

ب. تأثير العوامل المربعة Square: يحتوي النموذج المدروس ثلاثة متغيرات مربعة هي نسبة الميب إلى الطحلب الجاف، درجة حرارة الاستخلاص، زمن الاستخلاص. يُلاحظ من الجدول 31 أن قيمة  $p$  لكل من معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب ودرجة حرارة الاستخلاص أقل من 0.01؛ أي إن هنالك تأثيراً معنوياً لهذه العوامل المربعة في المردود من عديد السكاريد الكبريتي، هذا يعني وجود معادلة من الدرجة الثانية بين العامل المستقل (معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب ودرجة حرارة الاستخلاص) والعامل التابع (المردود)، وتأخذ العلاقة بين مربع هذين العاملين والمردود هيئة قطع مكافئ وإن قيمة  $p$  لمتغير مربع زمن الاستخلاص كان أعلى من 0.01، وليس له تأثير معنوي في المردود؛ أي يوجد متغير مربع واحد على الأقل معنوي لأن قيمة  $p$  كانت أقل من 0.01.

ج. التأثيرات المتداخلة للعوامل المؤثرة في المردود interaction: يتضح من الجدول 31 أن علاقة درجة حرارة الاستخلاص كانت معنوية مع متغير معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب، فقد كانت قيمة  $p$  أقل من 0.01، وكانت علاقة متغير درجة حرارة الاستخلاص مع متغير زمن الاستخلاص غير معنوية لأن قيمة  $p$  كانت أكبر من 0.01، وكذلك الأمر في حالة علاقة متغير معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب مع متغير زمن الاستخلاص، وهذا يدل على أن تأثير درجة حرارة الاستخلاص لا يتغير بتغير زمن الاستخلاص، وأن تأثير معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب لا يتغير بتغير زمن الاستخلاص، وجرى تفسير البيانات الإحصائية بحسب (Sereshti et al., 2011, 2938)، وكانت علاقة التأثيرات غير معنوية لأن قيمة  $p$  كانت أعلى من 0.01، ودُرس تأثير العوامل المختلفة في مردود عديد السكاريد وجرى التعبير عنها برسومات ثلاثية الأبعاد، وفي كل رسم عاملان بقيم متغيرة، وكان تثبيت العامل الثالث على قيمة محددة ثابتة وتُفترَح هذه الأشكال التأثيرات بين العوامل المؤثرة في المردود وتأخذ شكل القبة (Li et al., 2013, 152-153)، وأمكن الحصول على معادلة من الدرجة الثانية لتحديد الظروف المثلى لاستخلاص عديد السكاريد من طحلب الكلادوفورا باستعمال تصميم بوكس-بنكن بالاعتماد على الجدول 31. من خلال الجدول 31 يُلاحظ أن قيمة معامل التحديد بلغت 0.813  $R^2 = 0.817$  و  $R^2 = 0.817$ ، وهذا يدل على أن النموذج يشرح نسبة 81.3 و 81.7% من تغيرات العامل التابع (مردود عديد السكاريد الكبريتي المنتج لدى طحلب *C. crispata* و *C. fracta*)، وأن قيمة معامل التحديد المعدل

ولذلك يعدّ هذا النموذج عالي الكفاءة وملئ لغرض دراسة تأثير العوامل المستقلة في العامل التابع، إضافة إلى أن القيمة المنخفضة جداً للخطأ القياسي 0.86 و 0.78 على الترتيب لدى طحلب *C. crispata* و *C. fracta* تشير إلى الدقة العالية والثقة الجيدة للقيم التجريبية (Zou et al., 2011, 505).

$$\text{Yield } C. \text{crispata} = -28.48 + 1.169 X_1 + 0.568 X_2 + 0.0063 X_3 - 0.01579 X_1^2 - 0.003469 X_2^2 + 0.000021 X_3^2 - 0.00397 X_1 * X_2 - 0.000370 X_1 * X_3 + 0.000042 X_2 * X_3.$$

$$\text{Yield } C. \text{fracta} = -29.72 + 1.330 X_1 + 0.537 X_2 + 0.0181 X_3 - 0.01817 X_1^2 - 0.003106 X_2^2 - 0.000050 X_3^2 - 0.00441 X_1 * X_2 - 0.000420 X_1 * X_3 + 0.000081 X_2 * X_3.$$

إذ: X1: نسبة الماء إلى الطحلب الجاف، X2: درجة حرارة الاستخلاص، X3: زمن الاستخلاص.

الجدول 31. تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحلب *C. crispata* و *C. fracta* باستعمال الماء كمذيب استخلاص.

| المصدر               | درجة الحرية | مجموع المربعات المعدل (Adj SS) |                    | متوسط مجموع المربعات المعدل (Adj MS) |                    | قيمة فيشر F      |                    | الاحتمالية p     |                    |
|----------------------|-------------|--------------------------------|--------------------|--------------------------------------|--------------------|------------------|--------------------|------------------|--------------------|
|                      |             | <i>C. fracta</i>               | <i>C. crispata</i> | <i>C. fracta</i>                     | <i>C. crispata</i> | <i>C. fracta</i> | <i>C. crispata</i> | <i>C. fracta</i> | <i>C. crispata</i> |
| النموذج              | 9           | 47.357                         | 55.196             | 8.47                                 | 6.13               | 8.47             | 8.21               | 0.000            | 0.000              |
| التأثير الخطي        | 3           | 12.905                         | 16.239             | 6.93                                 | 5.41               | 6.93             | 7.25               | 0.003            | 0.002              |
| A                    | 1           | 3.546                          | 5.656              | 5.71                                 | 5.65               | 5.71             | 7.58               | 0.029            | 0.014              |
| B                    | 1           | 9.331                          | 10.5188            | 15.02                                | 10.51              | 15.02            | 14.09              | 0.001            | 0.002              |
| C                    | 1           | 0.0272                         | 0.0648             | 0.04                                 | 0.064              | 0.04             | 0.09               | 0.837            | 0.772              |
| التأثير المربع       | 3           | 26.534                         | 29.1352            | 14.24                                | 9.71               | 14.24            | 13.01              | 0.000            | 0.00               |
| AX A                 | 1           | 14.967                         | 19.8138            | 24.10                                | 19.81              | 24.10            | 26.54              | 0.000            | 0.00               |
| BX B                 | 1           | 11.555                         | 9.2587             | 18.60                                | 9.25               | 18.60            | 12.40              | 0.000            | 0.003              |
| CX C                 | 1           | 0.0107                         | 0.0627             | 0.02                                 | 0.062              | 0.02             | 0.08               | 0.897            | 0.775              |
| التداخل              | 3           | 7.9186                         | 9.822              | 4.25                                 | 3.27               | 4.25             | 4.39               | 0.021            | 0.018              |
| AX B                 | 1           | 7.5684                         | 9.328              | 12.19                                | 9.32               | 12.19            | 12.49              | 0.003            | 0.003              |
| A XC                 | 1           | 0.333                          | 0.429              | 0.54                                 | 0.42               | 0.54             | 0.58               | 0.474            | 0.459              |
| B XC                 | 1           | 0.0169                         | 0.0645             | 0.03                                 | 0.064              | 0.03             | 0.09               | 0.871            | 0.772              |
| الخطأ                | 17          | 10.558                         | 12.6923            |                                      |                    |                  |                    |                  |                    |
| مجموع                | 26          | 57.9165                        | 67.889             |                                      |                    |                  |                    |                  |                    |
| معامل الدرجة الثانية | R2          | %81.77                         | %81.30             |                                      |                    |                  |                    |                  |                    |
|                      | Adj. R2     | %72.12                         | %71.41             |                                      |                    |                  |                    |                  |                    |
|                      | Pred. R2    | %53.38                         | %51.22             |                                      |                    |                  |                    |                  |                    |
|                      | Std. error  | 0.78                           | 0.86               |                                      |                    |                  |                    |                  |                    |

إذ: A: نسبة الماء إلى الطحلب الجاف، B: درجة حرارة الاستخلاص، C: زمن الاستخلاص.

## 3-6-2- في حالة استعمال المتانول 70% كمذيب

أ. التأثير الخطي linear: يتضح من الجدول 32 أن قيمة  $p$  لجميع المتغيرات كانت أعلى من 0.01؛ وليس هنالك تأثير خطي معنوي لهذه المتغيرات في المردود من عديدات السكاريد الكبريتية.

ب. تأثير العوامل المربعة Square: يُلاحظ من الجدول 32 أن قيمة  $p$  لكل من معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب ودرجة حرارة الاستخلاص كانت أقل من 0.01؛ أي هنالك تأثير معنوي لهذين العاملين في المردود من عديد السكاريد الكبريتي، هذا يعني وجود معادلة من الدرجة الثانية بين العامل المستقل (معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب ودرجة حرارة الاستخلاص) والعامل التابع (المردود)، وتأخذ العلاقة بين مربع هذين العاملين والمردود هيئة قطع مكافئ، وإن قيمة  $p$  لمتغير مربع زمن الاستخلاص كان أعلى من 0.01، وليس له تأثير معنوي في المردود؛ أي يوجد متغير مربع واحد على الأقل معنوي لأن قيمة  $p$  كانت أقل من 0.01.

ج. التأثيرات المتداخلة للعوامل المؤثرة في المردود interaction: يتضح من الجدول 32 أنه لا يوجد تأثير معنوي مشترك لأي عاملين من العوامل المدروسة، أي إن تغير أي عامل مدروس لا يؤثر في تغير بقية العوامل لأن قيمة  $p$  لجميع العوامل المتداخلة كانت أكبر من 0.01. وجرى تفسير البيانات الإحصائية حسب (Sereshti *et al.*, 2011, 2938)، ودرس تأثير العوامل المختلفة في مردود عديد السكاريد وجرى التعبير عنها برسومات ثلاثية الأبعاد، وفي كل رسم عاملان بقيم متغيرة، وكان تثبيت العامل الثالث على قيمة محددة ثابتة، وتقترح هذه الأشكال التأثيرات بين العوامل المؤثرة في المردود (Li *et al.*, 2013, 152-153)، وأمكن الحصول على معادلة من الدرجة الثانية لتحديد الظروف المثلى لاستخلاص عديد السكاريد من طحلب الكلادوفورا باستعمال تصميم بوكس-بنكن بالاعتماد على الجدول 32. من خلال الجدول 32 يُلاحظ أن قيمة معامل التحديد بلغت  $R^2 = 0.736$  و  $R^2 = 0.792$ ، وهذا يدل أن النموذج يشرح نسبة 73.6 و 79.2% من تغيرات العامل التابع (مردود عديد السكاريد الكبريتي المنتج لدى طحلب *C. crispata* و *C. fracta*)، وأن قيمة معامل التحديد المعدل  $R^2 = 0.59$  و  $R^2 = 0.68$  على الترتيب لدى طحلب *C. crispata* و *C. fracta* كانت مرتفعة أيضاً، ولذلك يعدّ هذا النموذج عالي الكفاءة وملائم لغرض دراسة تأثير العوامل المستقلة في العامل التابع، إضافة إلى أن القيمة المنخفضة جداً للخطأ القياسي 0.99 و 0.75 على الترتيب لدى طحلب *C. crispata* و *C. fracta* تشير إلى الدقة العالية والثقة الجيدة للقيم التجريبية (Zou *et al.*, 2011, 505).

$$\text{Yield } C.\text{crispata} = -25.60 + 1.354 X_1 + 0.387 X_2 - 0.0069 X_3 - 0.02358 X_1^2 - 0.00327 X_2^2 - 0.000078 X_3^2 + 0.00027 X_1 * X_2 + 0.000267 X_1 * X_3 + 0.000180 X_2 * X_3.$$

$$\text{Yield } C.\text{fracta} = -22.61 + 1.132 X_1 + 0.376 X_2 - 0.0064 X_3 - 0.01984 X_1^2 - 0.003128 X_2^2 - 0.000091 X_3^2 + 0.00013 X_1 * X_2 + 0.000348 X_1 * X_3 + 0.000159 X_2 * X_3.$$

الجدول 32 . تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحلب *C. frakta* و *C. crispata* باستعمال المتانول 70 % كمذيب استخلاص.

| الاحتمالية |            | قيمة فيشر |            | متوسط مجموع المربعات |            | مجموع المربعات المعدل |            | درجة       | المصدر               |
|------------|------------|-----------|------------|----------------------|------------|-----------------------|------------|------------|----------------------|
| p          |            | F         |            | المعدل (Adj MS)      |            | (Adj SS )             |            | الحرية     |                      |
| C.fracta   | C.crispata | C.fracta  | C.crispata | C.fracta             | C.crispata | C.fracta              | C.crispata |            |                      |
| 0.000      | 0.002      | 7.22      | 5.27       | 4.104                | 5.241      | 36.94                 | 17.47      | 9          | النموذج              |
| 0.175      | 0.431      | 1.86      | 0.97       | 1.056                | 0.962      | 3.169                 | 2.88       | 3          | التأثير الخطي        |
| 0.179      | 0.317      | 1.96      | 1.06       | 1.115                | 1.056      | 1.115                 | 1.056      | 1          | A                    |
| 0.074      | 0.193      | 3.61      | 1.84       | 2.053                | 1.830      | 2.053                 | 1.830      | 1          | B                    |
| 0.980      | 0.970      | 0.00      | 0.00       | 0.0004               | 0.001      | 0.0004                | 0.001      | 1          | C                    |
| 0.000      | 0.000      | 19.49     | 14.66      | 11.074               | 14.588     | 33.223                | 43.76      | 3          | التأثير المربع       |
| 0.000      | 0.000      | 41.58     | 33.51      | 23.628               | 33.354     | 23.628                | 33.354     | 1          | AX A                 |
| 0.001      | 0.005      | 16.53     | 10.31      | 9.391                | 10.261     | 9.391                 | 10.261     | 1          | BX B                 |
| 0.557      | 0.703      | 0.36      | 0.15       | 0.204                | 0.149      | 0.204                 | 0.149      | 1          | CX C                 |
| 0.809      | 0.912      | 0.32      | 0.18       | 0.183                | 0.174      | 0.549                 | 0.522      | 3          | التداخل              |
| 0.904      | 0.851      | 0.02      | 0.04       | 0.008                | 0.036      | 0.008                 | 0.0363     | 1          | AX B                 |
| 0.481      | 0.682      | 0.52      | 0.17       | 0.294                | 0.172      | 0.294                 | 0.172      | 1          | A XC                 |
| 0.519      | 0.582      | 0.43      | 0.32       | 0.246                | 0.313      | 0.246                 | 0.313      | 1          | B XC                 |
|            |            |           |            | 0.568                | 0.995      | 9.660                 | 16.919     | 17         | الخطأ                |
|            |            |           |            |                      |            | 46.603                | 64.095     | 26         | مجموع                |
|            |            |           |            |                      |            | %79.27                | %73.6      | R2         | معامل الدرجة الثانية |
|            |            |           |            |                      |            | %68.30                | %59.63     | Adj. R2    |                      |
|            |            |           |            |                      |            | %49.31                | %34.52     | Pred. R2   |                      |
|            |            |           |            |                      |            | 0.75                  | 0.99       | Std. error |                      |

ب. تأثير العوامل المربعة Square: يُلاحظ من الجدول 33 أن قيمة  $p$  لجميع المتغيرات كانت أقل من 0.01 (باستثناء تأثير عامل الزمن في المردود من عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب *C.fracta*)؛ أي هنالك تأثير معنوي لهذه العوامل المربعة في كمية عديد السكاريد الكبريتي المنتج (المردود)، هذا يعني وجود معادلة من الدرجة الثانية بين العامل المستقل والعامل التابع (المردود)، وتأخذ العلاقة بين مربع هذه العوامل والمردود هيئة قطع مكافئ.

ج. التأثيرات المتداخلة للعوامل المؤثرة في المردود interaction: يُلاحظ من الجدول 33 أن قيمة  $p$  لجميع المتغيرات كانت أعلى من 0.01، أي لا يوجد تأثير مشترك لأي عاملين في المردود من عديدات السكاريد الكبريتية. وجرى تفسير البيانات الإحصائية بحسب (Sereshti et al., 2011, 2938)، ودُرس تأثير العوامل المختلفة في مردود عديد السكاريد وجرى التعبير عنها برسومات ثلاثية الأبعاد، وفي كل رسم عاملان بقيم متغيرة، وكان تثبيت العامل الثالث على قيمة محددة، ثابتة، وتقترح هذه الأشكال التأثيرات بين العوامل المؤثرة في المردود (Li et al., 2013, 152–153)، وأمكن الحصول على معادلة من الدرجة الثانية لتحديد الظروف المثلى لاستخلاص عديد السكاريد من طحلب الكلادوفورا باستعمال تصميم بوكس-بنكن بالاعتماد على الجدول 33. من خلال الجدول 33 يُلاحظ أن قيمة معامل التحديد بلغت  $R^2 = 0.835$  و  $R^2 = 0.931$  وهذا يدل أن النموذج يشرح نسبة 83.5 و 93.1% من التغيرات العامل التابع (مردود عديد السكاريد الكبريتي المنتج لدى طحلب *C.crispata* و *C.fracta*)، وأن قيمة معامل التحديد المعدل  $R^2 = 0.74$  و  $R^2 = 0.89$  على الترتيب لدى طحلب *C.crispata* و *C.fracta* كانت مرتفعة أيضاً، ولذلك يعدّ هذا النموذج عالي الكفاءة وملئم لغرض دراسة تأثير العوامل المستقلة في العامل التابع، إضافة إلى أن القيمة المنخفضة جداً للخطأ القياسي 0.53 و 0.26 على الترتيب لدى طحلب *C.crispata* و *C.fracta* تشير إلى الدقة العالية والثقة الجيدة للقيم التجريبية (Zou et al., 2011, 505).

$$\begin{aligned} \text{Yield } C.crispata = & -16.39 + 0.730 X_1 + 0.3420 X_2 + 0.0323 X_3 - 0.01263 X_1^2 - \\ & 0.003058 X_2^2 - 0.000344 X_3^2 + 0.000042 X_1 * X_2 - 0.000030 X_1 * X_3 \\ & + 0.000269 X_2 * X_3. \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Yield } C.fracta = & -9.23 + 0.2922 X_1 + 0.3488 X_2 - 0.0083 X_3 - 0.00587 X_1^2 - \\ & 0.003063 X_2^2 - 0.000031 X_3^2 + 0.000242 X_1 * X_2 + 0.000270 X_1 * X_3 - \\ & 0.000026 X_2 * X_3. \end{aligned}$$

الجدول 33 . تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحلب *C. crispata* و *C. fracta* باستعمال الإيثانول 70 % كمذيب استخلاص.

| الاحتمالية |            | قيمة فيشر |            | متوسط مجموع المربعات |            | مجموع المربعات المعدل |            | درجة          | المصدر               |
|------------|------------|-----------|------------|----------------------|------------|-----------------------|------------|---------------|----------------------|
| p          |            | F         |            | المعدل (Adj MS)      |            | ( Adj SS )            |            | الحرية        |                      |
| C.fracta   | C.crispata | C.fracta  | C.crispata | C.fracta             | C.crispata | C.fracta              | C.crispata |               |                      |
| 0.000      | 0.00       | 25.66     | 9.60       | 1.692                | 2.700      | 15.228                | 24.307     | 9             | النموذج              |
| 0.000      | 0.092      | 19.83     | 2.53       | 1.307                | 0.712      | 3.923                 | 2.136      | 3             | التأثير الخطي        |
| 0.001      | 0.003      | 17.06     | 5.06       | 1.125                | 1.422      | 1.125                 | 1.422      | 1             | A                    |
| 0.000      | 0.005      | 19.66     | 0.33       | 1.296                | 0.093      | 1.296                 | 0.093      | 1             | B                    |
| 0.000      | 0.001      | 22.78     | 2.20       | 1.502                | 0.619      | 1.502                 | 0.619      | 1             | C                    |
| 0.000      | 0.000      | 56.08     | 25.44      | 3.697                | 7.155      | 11.092                | 21.467     | 3             | التأثير المربع       |
| 0.000      | 0.000      | 31.32     | 34.05      | 2.065                | 9.576      | 2.065                 | 9.576      | 1             | AX A                 |
| 0.000      | 0.000      | 136.55    | 31.92      | 9.003                | 8.979      | 9.003                 | 8.979      | 1             | BX B                 |
| 0.554      | 0.005      | 0.37      | 10.35      | 0.024                | 2.912      | 0.024                 | 2.912      | 1             | CX C                 |
| 0.387      | 0.494      | 1.07      | 0.83       | 0.070                | 0.234      | 0.212                 | 0.703      | 3             | التداخل              |
| 0.523      | 0.095      | 0.43      | 0.00       | 0.028                | 0.000      | 0.028                 | 0.0008     | 1             | AX B                 |
| 0.119      | 0.093      | 2.69      | 0.01       | 0.177                | 0.002      | 0.177                 | 0.0021     | 1             | A XC                 |
| 0.757      | 0.013      | 0.10      | 2.49       | 0.006                | 0.700      | 0.006                 | 0.7008     | 1             | B XC                 |
|            |            |           |            | 0.065                | 0.281      | 1.120                 | 4.7815     | 17            | الخطأ                |
|            |            |           |            |                      |            | 16.349                | 29.0888    | 26            | المجموع              |
|            |            |           |            |                      |            | %93.14                | %83.56     | R2            | معامل الدرجة الثانية |
|            |            |           |            |                      |            | %89.51                | %74.86     | Adj. R2       |                      |
|            |            |           |            |                      |            | %82.53                | %62.60     | Pred. R2      |                      |
|            |            |           |            |                      |            | 0.26                  | 0.53       | Standar error |                      |

ب. تأثير العوامل المربعة Square: يُلاحظ من الجدول 34 أن قيمة  $p$  لمعدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب كانت أقل من 0.01؛ أي هنالك تأثير معنوي لهذا العامل المربع في كمية عديد السكاريد الكبريتي المنتج (المردود)، هذا يعني وجود معادلة من الدرجة الثانية بين العامل المستقل (نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب) والعامل التابع (المردود)، وتأخذ العلاقة بين مربع هذا العامل والمردود هيئة قطع مكافئ، وإن قيمة  $p$  لمتغيري مربع زمن الاستخلاص و زمنه كانتا أعلى من 0.01، وليس لهما تأثير معنوي في المردود؛ أي يوجد متغير مربع واحد معنوي لأن قيمة  $p$  كانت أقل من 0.01.

ج. التأثيرات المتداخلة للعوامل المؤثرة في المردود interaction: يتضح من الجدول 34 أن علاقة درجة حرارة الاستخلاص كانت غير معنوية مع متغير معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب، فقد كانت قيمة  $p$  أكبر من 0.01، وكذلك الأمر في حالة علاقة متغير معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب مع متغير زمن الاستخلاص، وكانت علاقة متغير درجة حرارة الاستخلاص مع متغير زمن الاستخلاص معنوية لأن قيمة  $p$  كانت أقل من 0.01، وهذا يدل على أن تأثير درجة حرارة الاستخلاص في المردود يتغير بتغير زمن الاستخلاص، وأن تأثير معدل نسبة الماء إلى الوزن الجاف للطحلب على المردود لا يتغير بتغير زمن الاستخلاص، أو درجة حرارة الاستخلاص، وجرى تفسير البيانات الإحصائية بحسب سيريشتي وزملائه (Sereshti et al., 2011, 2938)، وُدُرُس تأثير العوامل المختلفة في مردود عديد السكاريد وجرى التعبير عنها برسومات ثلاثية الأبعاد، وفي كل رسم عاملان بقيم متغيرة، وكان تثبيت العامل الثالث على قيمة محددة ثابتة وتقتصر هذه الأشكال التأثيرات بين العوامل المؤثرة في المردود (Li et al., 2013, 152-153)، وأمكن الحصول على معادلة من الدرجة الثانية لتحديد الظروف المثلى لاستخلاص عديد السكاريد من طحلب الكلادوفورا (*C. frakta* و *C. crispata*) باستعمال تصميم بوكس - بنكن بالاعتماد على الجدول 34.

من خلال الجدول 34 يُلاحظ أن قيمة معامل التحديد بلغت  $R^2 = 0.727$  و  $R^2 = 0.715$ ، وهذا يدل أن النموذج يشرح نسبة 72.7 و 71.5% من التغيرات العامل التابع (مردود عديد السكاريد الكبريتي المنتج لدى طحلب *C. crispata* و *C. frakta*)، وأن قيمة معامل التحديد المعدل  $R^2 = 0.58$  و  $R^2 = 0.56$  على الترتيب لدى طحلب *C. frakta* و *C. crispata* كانت مرتفعة أيضاً، ولذلك يعدّ هذا النموذج عالي الكفاءة وملائم لغرض دراسة تأثير العوامل المستقلة في العامل التابع، إضافة إلى أن القيمة المنخفضة جداً للخطأ القياسي 1.43 و 1.40 على الترتيب لدى طحلب *C. frakta* و *C. crispata* تشير إلى الدقة العالية والثقة الجيدة للقيم التجريبية (Zou et al., 2011, 505).

$$\text{Yield } C. \text{crispata} = -13.89 + 1.343 X_1 - 0.078 X_2 + 0.0959 X_3 - 0.02341 X_1^2 \\ + 0.00100 X_2^2 + 0.000029 X_3^2 + 0.00033 X_1 * X_2 + 0.000100 X_1 * X_3 - \\ 0.001546 X_2 * X_3.$$

$$\text{Yield } C. \text{frakta} = -15.45 + 1.315 X_1 - 0.008 X_2 + 0.0808 X_3 - 0.02313 X_1^2 \\ + 0.00032 X_2^2 + 0.000109 X_3^2 + 0.00058 X_1 * X_2 - 0.000067 X_1 * X_3 - \\ 0.001426 X_2 * X_3.$$

الجدول 34 . تحليل التباين ومعاملات الانحدار متعددة الحدود من الدرجة الثانية المتوقعة للعوامل المؤثرة في استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحلب *C. crispata* و *C. fracta* باستعمال الأسيتون 70 % كمذيب استخلاص.

| المصدر               | درجة الحرية   | مجموع المربعات المعدل (Adj SS) | متوسط مجموع المربعات المعدل (Adj MS) | قيمة فيشر F      | الاحتمالية p       |
|----------------------|---------------|--------------------------------|--------------------------------------|------------------|--------------------|
|                      |               | <i>C. fracta</i>               | <i>C. crispata</i>                   | <i>C. fracta</i> | <i>C. crispata</i> |
| النموذج              | 9             | 84.566                         | 10.372                               | 4.74             | 0.002              |
| التأثير الخطي        | 3             | 32.133                         | 12.059                               | 5.40             | 0.006              |
| A                    | 1             | 3.345                          | 2.040                                | 1.69             | 0.333              |
| B                    | 1             | 25.442                         | 30.160                               | 12.83            | 0.001              |
| C                    | 1             | 3.345                          | 3.976                                | 1.69             | 0.182              |
| التأثير المربع       | 3             | 32.496                         | 11.286                               | 5.46             | 0.008              |
| AX A                 | 1             | 32.109                         | 32.884                               | 16.19            | 0.001              |
| BX B                 | 1             | 0.096                          | 0.954                                | 0.05             | 0.505              |
| CX C                 | 1             | 0.290                          | 0.020                                | 0.15             | 0.921              |
| التداخل              | 3             | 19.937                         | 7.772                                | 3.35             | 0.030              |
| AX B                 | 1             | 0.163                          | 0.053                                | 0.08             | 0.874              |
| A XC                 | 1             | 0.011                          | 0.024                                | 0.01             | 0.915              |
| B XC                 | 1             | 19.763                         | 23.240                               | 9.97             | 0.004              |
| الخطأ                | 17            | 33.707                         | 2.056                                |                  |                    |
| المجموع              | 26            | 118.273                        |                                      |                  |                    |
| معامل الدرجة الثانية | R2            | %71.50                         | %72.75                               |                  |                    |
|                      | Adj. R2       | %56.41                         | %58.32                               |                  |                    |
|                      | Pred. R2      | %29.75                         | %33                                  |                  |                    |
|                      | Standar error | 1.40                           | 1.43                                 |                  |                    |

إذ: A: نسبة الأسيتون 70% إلى الطحلب الجاف، B: درجة حرارة الاستخلاص، C: زمن الاستخلاص.

### 3-6-5- الظروف المثلى لاستخلاص عديد السكاريد الكبريتي باستعمال منهجية سطح الاستجابة RSM

قامت منهجية سطح الاستجابة بتحديد الظروف المثلى لاستخلاص عديد السكاريد ضمن كل معاملة، كما قامت هذه الطريقة بتحديد القيمة المتوقعة لهذا المردود ضمن تلك الظروف، ويُلاحظ أن العوامل المؤثرة تأخذ شكل قطوع مكافئة وتقطع القيمة المثلى في ذروة القطع (Zou et al., 2011, 505)

. ويعطي الجدول 35 مقارنة بين الظروف التجريبية والمتوقعة بحسب منهجية سطح الاستجابة لأمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب الكلادوفورا وتأثيرها في المردود.

الجدول 35. مقارنة بين الظروف التجريبية والمتوقعة بحسب منهجية سطح الاستجابة لأمثلة استخلاص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب الكلادوفورا وتأثيرها في المردود

| المذيب           | الطحلب            | الظروف المثلى | نسبة الماء إلى الطحلب الجاف<br>مل : غ | حرارة الاستخلاص<br>درجة مئوية | زمن الاستخلاص<br>دقيقة | المردود % |
|------------------|-------------------|---------------|---------------------------------------|-------------------------------|------------------------|-----------|
| الماء            | <i>C.crispata</i> | التجريبية     | 1:30                                  | 60                            | 120                    | 7         |
|                  |                   | المتوقعة      | 1:27                                  | 68.68                         | 107                    | 7.59      |
|                  | <i>C.fracta</i>   | التجريبية     | 1: 30                                 | 60                            | 120                    | 6.96      |
|                  |                   | المتوقعة      | 1 :27                                 | 67                            | 120                    | 7.09      |
| المتانول<br>%70  | <i>C.crispata</i> | التجريبية     | 1: 30                                 | 60                            | 120                    | 7         |
|                  |                   | المتوقعة      | 1:29                                  | 62.62                         | 78.18                  | 6.19      |
|                  | <i>C.fracta</i>   | التجريبية     | 1: 30                                 | 60                            | 120                    | 6.2       |
|                  |                   | المتوقعة      | 1:29                                  | 62.62                         | 75.45                  | 5.57      |
| الإيثانول<br>%70 | <i>C.crispata</i> | التجريبية     | 1: 30                                 | 60                            | 75                     | 6         |
|                  |                   | المتوقعة      | 1:28                                  | 58.98                         | 69                     | 5.36      |
|                  | <i>C.fracta</i>   | التجريبية     | 1: 30                                 | 60                            | 75                     | 5         |
|                  |                   | المتوقعة      | 1:26                                  | 57.92                         | 69                     | 4.58      |
| الأسيتون<br>%70  | <i>C.crispata</i> | التجريبية     | 1: 30                                 | 40                            | 120                    | 13        |
|                  |                   | المتوقعة      | 1:29                                  | 40                            | 120                    | 9.07      |
|                  | <i>C.fracta</i>   | التجريبية     | 1: 30                                 | 40                            | 120                    | 12.2      |
|                  |                   | المتوقعة      | 1:28                                  | 40                            | 120                    | 8.27      |

تطابقت القيم المثلى التجريبية لاستخلاص عديد السكاريد من طحالب الكلادوفورا مع دراسات سابقة، كما نلاحظ من خلال الجدول 35 أن منهجية سطح الاستجابة كانت مناسبة جداً لاستخلاص عديد السكاريد (Meyer and Terry,2008,7442; Zhu et al.,2010,108).

### 3-7 - السكريات الكلية الذوابة في عديد السكاريد الخام

تشير نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود تأثير معنوي لنسبة الطحلب الجاف:المذيب، زمن الاستخلاص ودرجة حرارته في النسبة المئوية للسكريات الذوابة الكلية وذلك في حالة الماء هو مذيب استخلاص؛ يوضح الجدولين 36 و 37 أن درجة حرارة الاستخلاص 60 م° وزمن الاستخلاص 120د. كانت مناسبة لاستخلاص

عديد السكاريد بوساطة الماء لكلا نوعي طحالب *C. crispata* و *C. fracta*، إذ أعطت أعلى محتوى من السكريات الكلية؛ وهذا يشير إلى تأثير درجة حرارة الاستخلاص القوي في انتزاع السكريات الذوابة من الجذر الحيوية للطحلب (Wu et al., 2007, 1603)، كما لوحظ أن طول زمن الاستخلاص يسبب انخفاض نسبة السكريات عند الاستخلاص لجميع معاملات النسبة 40 : 1 مل/غ ولبعض معاملات النسبة 20 : 1 مل/غ وهو يطابق نتائج الباحثين (Zou et al., 2011, 506)، ويُلاحظ من الجدولين 36 و 37 أنه على نسبة 40 : 1 مل/غ وعند استعمال درجة حرارة استخلاص 80 م° ومع امتداد زمن الاستخلاص فإن حرارة الماء ترتفع بشكل أسرع وتحلمه عديدات السكاريد وبالوقت نفسه تزداد نسبة المواد المرافقة للسكريات (مواد ملوثة)، ومن ثم الحصول على محتوى منخفض من السكريات، ويتفق ذلك مع نتائج (Guang et al., 2012, 1781).

كما يُلاحظ من خلال الجدولين 42 و 43 أن استعمال الأسيتون 70% كمذيب استخلاص أعطى أعلى نسبة مئوية للسكريات الذوابة الكلية لكلا نوعي الطحالب *C. crispata* (74.36%) و *C. fracta* (71.16%) على الترتيب بظروف الاستخلاص 40 م°، 120 د، 30:1 مل/غ، وتفق بذلك على أكثر المذيبات قطبيةً (الماء). جاءت المعاملة التي استعمل معها المتانول 70% كمذيب استخلاص وبظروف 60 م°، 120 د بالمرتبة الثالثة و المعاملة التي استعمل معها الإيثانول 70% كمذيب استخلاص وبظروف 60 م°، 120 د بالمرتبة الأخيرة من حيث أعلى نسبة مئوية للسكريات الذوابة الكلية، وأعطت المعاملات التي استعمل معها الأسيتون 70% و الإيثانول ضمن ظروف استخلاص 60 و 80 م° أقل نسبة مئوية للسكريات الذوابة الكلية في جميع نسب الطحلب الجاف : المذيب في كلا نوعي الطحالب *C. crispata* و *C. fracta*. في جميع المعاملات التي استعمل معها المتانول 70%، الإيثانول 70%، الأسيتون 70% كمذيبات استخلاص (الجدول 36 - 43) وعلى درجات حرارة استخلاص 80 م° كان لطول زمن الاستخلاص تأثير غير معنوي في النسبة المئوية للسكريات الذوابة ضمن عديد السكاريد المستخلص، ويرجع ذلك إلى التأثير الضار لهذه الحرارة في البنية الهيكلية لعديد السكاريد (Zou et al., 2011, 506). من خلال الجداول 36 - 43 يُلاحظ ازدياد النسبة المئوية للسكريات الذوابة الكلية بازدياد نسبة الطحلب الجاف : مذيب من 1 : 20 إلى 1 : 30، لكن كانت هذه الزيادة غير معنوية عند ازدياد نسبة الطحلب الجاف : مذيب إلى 1 : 40، إذ تعمل هذه الزيادة إلى إضعاف مقدرة الأمواج فوق الصوتية على انتزاع السكريات من الطحلب (Ying et al., 2011, 1276).

كما تُلاحظ من خلال الجداول 36 - 43 أن طول زمن الاستخلاص كان غير معنوي في بعض الحالات على النسبة المئوية للسكريات الذوابة الكلية وذلك يتفق مع نتائج أبحاث سابقة (Boukroufa et al., 2015, 74; Vinatoru et al., 2017, 175)، إذ أنه تعلق بطبيعة مذيب الاستخلاص المستعمل، ودرجة حرارة الاستخلاص، ونسبة الطحلب الجاف : المذيب ؛ ففي حالة استعمال الماء كمذيب استخلاص، كان تأثير طول زمن الاستخلاص غير معنوي في جميع معاملات 20:1 و 40:1 باستثناء معاملات درجة حرارة الاستخلاص 60 م°. أما في حالة استعمال المتانول 70% كمذيب استخلاص، كان زيادة زمن الاستخلاص غير مجدية على درجة حرارة استخلاص 40 م°. ووجد أن استعمال الإيثانول 70% كمذيب استخلاص قد جعل من زيادة زمن الاستخلاص غير معنوية باستثناء معاملات 30:1 على درجات حرارة مرتفعة. عند استعمال

الأسيتون 70% كمذيب استخلاص فإن زيادة زمن الاستخلاص كانت ذات تأثير غير معنوي عند استعمال درجات حرارة استخلاص 60 و 80 م°.

الجدول 36. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بواسطة الماء من

طحلب *Cladophora crispata*.

| زمن الاستخلاص د.               |                                |                                | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/ مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------------|----------------------------|
| 120                            | 75                             | 30                             |                                        |                            |
| 44.66±0.0021 <sup>c</sup><br>H | 47.02±0.004 <sup>b</sup><br>F  | 51.34±0.0021 <sup>a</sup><br>F | 20:1                                   | 40                         |
| 71.39±0.0057 <sup>a</sup><br>B | 56.79±0.007 <sup>b</sup><br>C  | 53.33±0.004 <sup>c</sup><br>E  | 30:1                                   |                            |
| 40.08±0.006 <sup>c</sup><br>I  | 52.95±0.002 <sup>b</sup><br>G  | 53.33±0.004 <sup>a</sup><br>E  | 40:1                                   |                            |
| 56.79±0.007 <sup>a</sup><br>E  | 55.92±0.0043 <sup>b</sup><br>D | 54.93±0.006 <sup>c</sup><br>D  | 20:1                                   | 60                         |
| 74.11±0.0021 <sup>a</sup><br>A | 69.04±0.00 <sup>b</sup><br>A   | 58.15±0.002 <sup>c</sup><br>B  | 30:1                                   |                            |
| 54.93±0.006 <sup>c</sup><br>F  | 56.79±0.007 <sup>b</sup><br>C  | 58.15±0.002 <sup>a</sup><br>B  | 40:1                                   |                            |
| 67.42±0.004 <sup>a</sup><br>D  | 67.42±0.004 <sup>a</sup><br>B  | 67.42±0.004 <sup>a</sup><br>A  | 20:1                                   | 80                         |
| 70.64±0.002 <sup>a</sup><br>C  | 69.04±0.00 <sup>b</sup><br>A   | 57.90±0.003 <sup>c</sup><br>C  | 30:1                                   |                            |
| 45.53±0.002 <sup>c</sup><br>G  | 50.18±0.0037 <sup>a</sup><br>E | 47.02±0.004 <sup>b</sup><br>G  | 40:1                                   |                            |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 37. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الماء من

طحلب *Cladophora fracta*.

| زمن الاستخلاص د.              |                                |                                | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| 120                           | 75                             | 30                             |                                       |                            |
| 42.17±0.002 <sup>c</sup><br>G | 47.85±0.003 <sup>b</sup><br>H  | 50.56±0.002 <sup>a</sup><br>G  | 20:1                                  | 40                         |
| 68.32±0.002 <sup>a</sup><br>B | 56.36±0.003 <sup>b</sup><br>C  | 51.34±0.0021 <sup>c</sup><br>F | 30:1                                  |                            |
| 38.72±0.002 <sup>c</sup><br>H | 48.96±0.003 <sup>b</sup><br>G  | 51.92±0.003 <sup>a</sup><br>F  | 40:1                                  |                            |
| 56.79±0.007 <sup>a</sup><br>D | 55.92±0.0043 <sup>b</sup><br>D | 53.33±0.004 <sup>c</sup><br>E  | 20:1                                  | 60                         |
| 72.64±0.003 <sup>a</sup><br>A | 70.05±0.003 <sup>b</sup><br>A  | 56.79±0.007 <sup>c</sup><br>B  | 30:1                                  |                            |
| 50.44±0.003 <sup>c</sup><br>E | 52.95±0.002 <sup>b</sup><br>E  | 54.93±0.006 <sup>a</sup><br>D  | 40:1                                  |                            |
| 64.5±0.003 <sup>a</sup><br>C  | 64.5±0.003 <sup>a</sup><br>B   | 64.37±0.002 <sup>a</sup><br>A  | 20:1                                  | 80                         |
| 71.53±0.003 <sup>a</sup><br>B | 70.42±0.003 <sup>b</sup><br>A  | 55.92±0.0043 <sup>c</sup><br>C | 30:1                                  |                            |
| 45.53±0.002 <sup>b</sup><br>F | 51.55±0.003 <sup>a</sup><br>F  | 45.53±0.002 <sup>b</sup><br>G  | 40:1                                  |                            |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.  
A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 38. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة المتانول

70% من طحلب *Cladophora crispata*.

| زمن الاستخلاص د.              |                               |                               | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| 120                           | 75                            | 30                            |                                       |                            |
| 42.3±0.002 <sup>a</sup><br>E  | 42.67±0.003 <sup>a</sup><br>G | 42.3±0.001 <sup>a</sup><br>G  | 20:1                                  | 40                         |
| 46.89±0.002 <sup>a</sup><br>D | 46.89±0.002 <sup>a</sup><br>F | 46.89±0.002 <sup>a</sup><br>F | 30:1                                  |                            |
| 40.82±0.003 <sup>a</sup><br>F | 40.82±0.003 <sup>a</sup><br>H | 40.45±0.007 <sup>a</sup><br>H | 40:1                                  |                            |
| 66.61±0.007 <sup>a</sup><br>B | 53.77±0.001 <sup>b</sup><br>C | 51.55±0.003 <sup>c</sup><br>C | 20:1                                  | 60                         |
| 70.54±0.002 <sup>a</sup><br>A | 58.08±0.002 <sup>b</sup><br>B | 55.86±0.003 <sup>c</sup><br>A | 30:1                                  |                            |
| 49.33±0.002 <sup>a</sup><br>C | 49.7±0.003 <sup>a</sup><br>E  | 50.07±0.002 <sup>a</sup><br>D | 40:1                                  |                            |
| 49.44±0.007 <sup>a</sup><br>C | 50.07±0.001 <sup>a</sup><br>D | 50.07±0.002 <sup>a</sup><br>D | 20:1                                  | 80                         |
| 67.33±0.003 <sup>a</sup><br>B | 67.33±0.003 <sup>a</sup><br>A | 53.40±0.007 <sup>b</sup><br>B | 30:1                                  |                            |
| 47.48±0.001 <sup>a</sup><br>D | 47.85±0.003 <sup>a</sup><br>F | 48.59±0.001 <sup>a</sup><br>E | 40:1                                  |                            |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 39. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة المتانول

70% من طحلب *Cladophora frakta*.

| زمن الاستخلاص د.              |                               |                               | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| 120                           | 75                            | 30                            |                                       |                            |
| 40.82±0.003 <sup>a</sup><br>H | 40.45±0.001 <sup>a</sup><br>G | 40.08±0.007 <sup>a</sup><br>G | 20:1                                  | 40                         |
| 43.78±0.002 <sup>a</sup><br>G | 43.78±0.002 <sup>a</sup><br>F | 43.41±0.001 <sup>a</sup><br>F | 30:1                                  |                            |
| 38.97±0.007 <sup>a</sup><br>I | 38.6±0.003 <sup>a</sup><br>H  | 38.23±0.002 <sup>a</sup><br>H | 40:1                                  |                            |
| 63.39±0.001 <sup>a</sup><br>C | 52.29±0.007 <sup>b</sup><br>C | 50.44±0.003 <sup>c</sup><br>C | 20:1                                  | 60                         |
| 66.35±0.003 <sup>a</sup><br>A | 54.14±0.001 <sup>b</sup><br>B | 52.29±0.003 <sup>c</sup><br>A | 30:1                                  |                            |
| 48.96±0.001 <sup>a</sup><br>D | 48.59±0.001 <sup>a</sup><br>D | 48.22±0.002 <sup>a</sup><br>D | 40:1                                  |                            |
| 47.85±0.003 <sup>a</sup><br>E | 48.22±0.002 <sup>a</sup><br>D | 48.59±0.001 <sup>a</sup><br>D | 20:1                                  | 80                         |
| 64.87±0.001 <sup>a</sup><br>B | 64.5±0.003 <sup>a</sup><br>A  | 51.92±0.001 <sup>b</sup><br>B | 30:1                                  |                            |
| 46.74±0.002 <sup>a</sup><br>F | 46.74±0.002 <sup>a</sup><br>E | 46.74±0.002 <sup>a</sup><br>E | 40:1                                  |                            |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 40. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الإيثانول

70% من طحلب *Cladophora crispata*.

| زمن الاستخلاص د.              |                               |                                | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|-------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| 120                           | 75                            | 30                             |                                       |                            |
| 45.26±0.001 <sup>b</sup><br>D | 50.44±0.002 <sup>a</sup><br>B | 47.11±0.002 <sup>c</sup><br>C  | 20:1                                  | 40                         |
| 48.96±0.007 <sup>c</sup><br>C | 53.27±0.002 <sup>a</sup><br>A | 51.05±0.002 <sup>b</sup><br>A  | 30:1                                  |                            |
| 37.49±0.003 <sup>b</sup><br>G | 50.07±0.001 <sup>a</sup><br>B | 38.23±0.002 <sup>b</sup><br>F  | 40:1                                  |                            |
| 49.7±0.003 <sup>b</sup><br>B  | 50.81±0.001 <sup>a</sup><br>B | 49.33±0.002 <sup>b</sup><br>B  | 20:1                                  | 60                         |
| 55.00±0.002 <sup>a</sup><br>A | 53.15±0.002 <sup>b</sup><br>A | 50.22±0.003 <sup>c</sup><br>AB | 30:1                                  |                            |
| 44.15±0.002 <sup>c</sup><br>E | 45.63±0.002 <sup>b</sup><br>C | 47.85±0.001 <sup>a</sup><br>C  | 40:1                                  |                            |
| 39.34±0.003 <sup>b</sup><br>F | 42.3±0.002 <sup>a</sup><br>E  | 43.04±0.002 <sup>a</sup><br>D  | 20:1                                  | 80                         |
| 45.06±0.001 <sup>a</sup><br>D | 44.15±0.007 <sup>a</sup><br>D | 43.04±0.007 <sup>b</sup><br>D  | 30:1                                  |                            |
| 37.49±0.002 <sup>c</sup><br>G | 40.08±0.001 <sup>b</sup><br>F | 41.19±0.001 <sup>a</sup><br>E  | 40:1                                  |                            |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 41. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الإيثانول

70% من طحلب *Cladophora fracta*.

| زمن الاستخلاص د.              |                                |                               | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|-------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| 120                           | 75                             | 30                            |                                       |                            |
| 44.52±0.001 <sup>c</sup><br>D | 49.33±0.001 <sup>a</sup><br>BC | 46.0±0.007 <sup>b</sup><br>C  | 20:1                                  | 40                         |
| 46.37±0.003 <sup>b</sup><br>C | 51.18±0.002 <sup>a</sup><br>A  | 50.81±0.002 <sup>a</sup><br>B | 30:1                                  |                            |
| 35.15±0.001 <sup>b</sup><br>I | 48.6±0.002 <sup>a</sup><br>C   | 36.07±0.001 <sup>b</sup><br>G | 40:1                                  |                            |
| 48.22±0.002 <sup>c</sup><br>B | 49.7±0.002 <sup>b</sup><br>B   | 50.81±0.003 <sup>a</sup><br>B | 20:1                                  | 60                         |
| 52.40±0.001 <sup>c</sup><br>A | 51.55±0.002 <sup>b</sup><br>A  | 52.29±0.007 <sup>a</sup><br>A | 30:1                                  |                            |
| 43.41±0.001 <sup>b</sup><br>E | 44.89±0.003 <sup>b</sup><br>D  | 46.74±0.003 <sup>a</sup><br>C | 40:1                                  |                            |
| 38.0±0.007 <sup>b</sup><br>G  | 41.56±0.001 <sup>a</sup><br>F  | 42.67±0.003 <sup>a</sup><br>E | 20:1                                  | 80                         |
| 40.19±0.002 <sup>c</sup><br>F | 42.3±0.002 <sup>b</sup><br>E   | 44.15±0.001 <sup>a</sup><br>D | 30:1                                  |                            |
| 36.4±0.001 <sup>b</sup><br>H  | 39.71±0.001 <sup>a</sup><br>G  | 40.08±0.003 <sup>a</sup><br>F | 40:1                                  |                            |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 42. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الأسيتون

70% من طحلب *Cladophora crispata*.

| زمن الاستخلاص د.              |                               |                               | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| 120                           | 75                            | 30                            |                                       |                            |
| 69.31±0.003 <sup>a</sup><br>B | 67.09±0.001 <sup>b</sup><br>B | 49.33±0.002 <sup>c</sup><br>C | 20:1                                  | 40                         |
| 74.36±0.003 <sup>a</sup><br>A | 70.66±0.002 <sup>b</sup><br>A | 52.9±0.002 <sup>c</sup><br>B  | 30:1                                  |                            |
| 63.02±0.007 <sup>a</sup><br>C | 59.32±0.003 <sup>b</sup><br>C | 47.11±0.001 <sup>c</sup><br>D | 40:1                                  |                            |
| 46.0±0.002 <sup>c</sup><br>G  | 51.18±0.001 <sup>b</sup><br>E | 53.4±0.001 <sup>a</sup><br>B  | 20:1                                  | 60                         |
| 49.70±0.001 <sup>c</sup><br>E | 54.01±0.002 <sup>b</sup><br>D | 55.62±0.007 <sup>a</sup><br>A | 30:1                                  |                            |
| 44.15±0.003 <sup>a</sup><br>G | 44.15±0.001 <sup>a</sup><br>G | 44.15±0.001 <sup>a</sup><br>E | 40:1                                  |                            |
| 45.26±0.001 <sup>c</sup><br>F | 47.48±0.001 <sup>b</sup><br>F | 49.33±0.002 <sup>a</sup><br>C | 20:1                                  | 80                         |
| 51.05±0.002 <sup>c</sup><br>D | 53.40±0.001 <sup>b</sup><br>D | 54.88±0.007 <sup>a</sup><br>A | 30:1                                  |                            |
| 41.93±0.003 <sup>c</sup><br>H | 43.78±0.002 <sup>b</sup><br>H | 46.74±0.003 <sup>a</sup><br>D | 40:1                                  |                            |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 43. النسبة المئوية للسكريات الكلية الذوابة ضمن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الأسيتون 70% من طحلب الماء العذب *Cladophora fracta*.

| زمن الاستخلاص د.              |                               |                               | نسبة الطحلب<br>الجاف : المذيب<br>غ/مل | درجة حرارة<br>الاستخلاص م° |
|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| 120                           | 75                            | 30                            |                                       |                            |
| 64.86±0.002 <sup>a</sup><br>B | 60.8±0.003 <sup>b</sup><br>B  | 48.59±0.001 <sup>c</sup><br>D | 20:1                                  | 40                         |
| 71.16±0.007 <sup>a</sup><br>A | 67.83±0.001 <sup>b</sup><br>A | 51.55±0.002 <sup>c</sup><br>B | 30:1                                  |                            |
| 60.8±0.001 <sup>a</sup><br>C  | 56.73±0.002 <sup>b</sup><br>C | 44.89±0.007 <sup>c</sup><br>E | 40:1                                  |                            |
| 44.89±0.001 <sup>c</sup><br>F | 49.44±0.003 <sup>b</sup><br>E | 51.95±0.002 <sup>a</sup><br>B | 20:1                                  | 60                         |
| 47.85±0.003 <sup>c</sup><br>E | 52.29±0.007 <sup>b</sup><br>D | 53.4±0.003 <sup>a</sup><br>A  | 30:1                                  |                            |
| 41.93±0.003 <sup>a</sup><br>H | 41.93±0.001 <sup>a</sup><br>G | 42.67±0.001 <sup>a</sup><br>F | 40:1                                  |                            |
| 43.3±0.002 <sup>c</sup><br>G  | 45.26±0.002 <sup>b</sup><br>F | 47.85±0.002 <sup>a</sup><br>D | 20:1                                  | 80                         |
| 48.96±0.001 <sup>b</sup><br>D | 49.7±0.002 <sup>ab</sup><br>E | 50.22±0.007 <sup>a</sup><br>C | 30:1                                  |                            |
| 39.71±0.007 <sup>c</sup><br>I | 41.56±0.003 <sup>b</sup><br>G | 44.15±0.001 <sup>a</sup><br>E | 40:1                                  |                            |

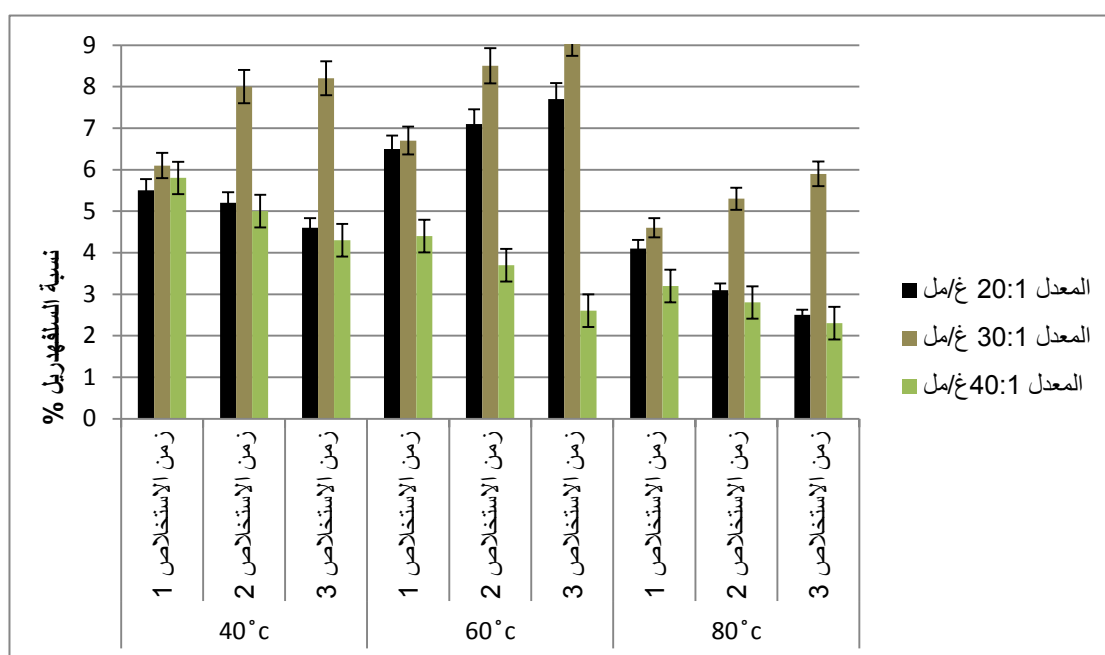
a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

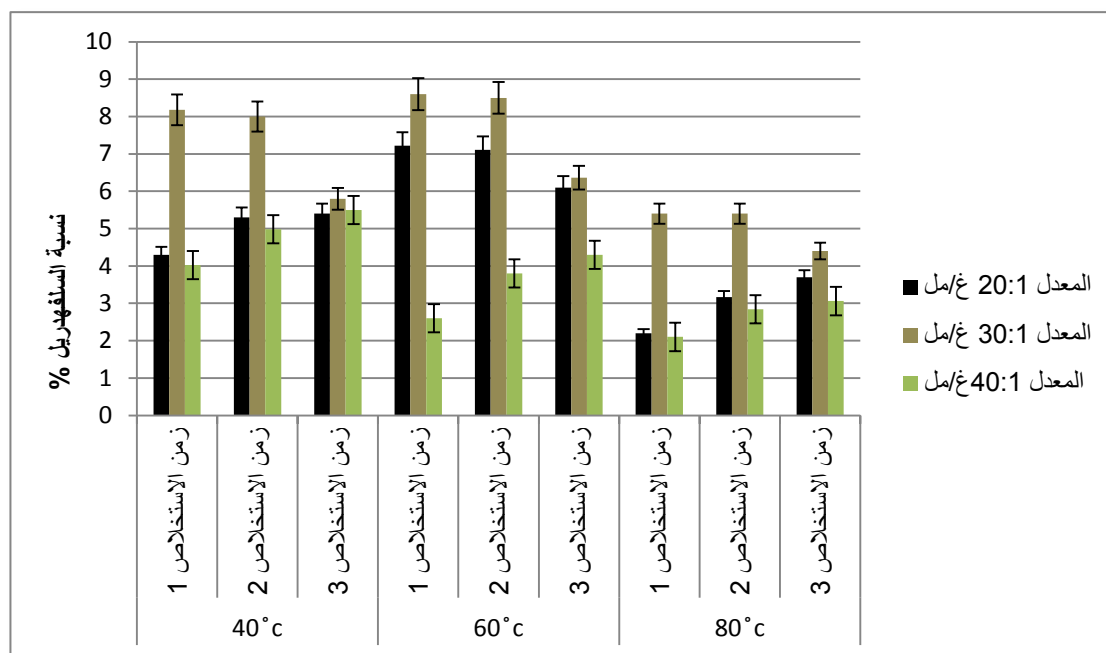
### 3-8- المحتوى من السلفهدريل في عديد السكاريد الخام

إن تأثير تغيير درجة حرارة الاستخلاص في نسبة السلفهدريل يتصف بتأثير معنوي فيما عدا معاملات 40 : 1 مل/غ، 120 دقيقة. وتوضح النتائج المتحصل عليها من الأشكال 11 - 18 أن أعلى محتوى من السلفهدريل كان عند استعمال درجات حرارة استخلاص منخفضة، ويتفق ذلك مع نتائج الأبحاث الأخرى (Imjongjairaka et al., 2016, 528; souza et al., 2012, 289; Mazumder et al., 2002, 91)، إذ أمكن الحصول على أعلى محتوى سلفاتي في معاملة الاستخلاص التي استعمل معها الأسيتون 70%، 40 م°، 120 د°، وأدنى قيم وجدت في المعاملات التي استعمل معها درجة حرارة استخلاص 80 م° وعلى نحو خاص في حال كون الأسيتون 70% والإيثانول 70% مستعملين كمذيبات استخلاص، وتُفسر النتائج بأنه عند

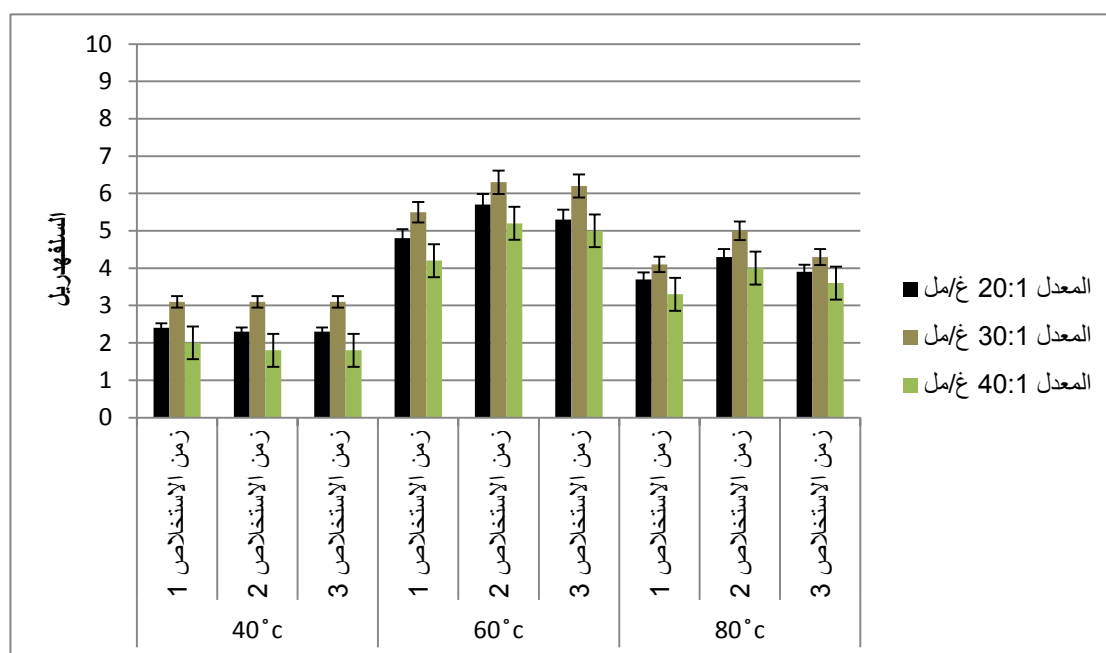
استعمال درجات حرارة استخلاص منخفضة 40-60 م° تتفكك الروابط الهيدروجينية لكن تبقى مجموعة السلفهديريل ثابتة، وعند مقارنة نتائج استخلاص عديد السكاريد بقيم المردود يُلاحظ أن أعلى نسبة السلفهديريل وجدت مترافقة مع أعلى مردود، إلا أنه عند استعمال درجة حرارة استخلاص مرتفعة أو درجة الغليان فإن مجموعة السلفهديريل التصقت بقوة مع سلاسل عديد السكاريد ويحصل لها تخرب ، وبالتالي الحصول على محتوى منخفض من عديد السكاريد، سكريات ذوابة كلية وسلفهديريل منخفضة أيضاً (Imjongjairaka et al., 2016, 528)، وقد خلص سوزا وزملاؤه إلى نتيجة مفادها أن استعمال درجات حرارة استخلاص منخفضة يعطي مردوداً منخفضاً من عديد السكاريد الكبريتي (مقارنة بدرجة حرارة الاستخلاص المرتفعة) لكنه ذو محتوى مرتفع من السلفهديريل (Souza et al., 2012, 289).



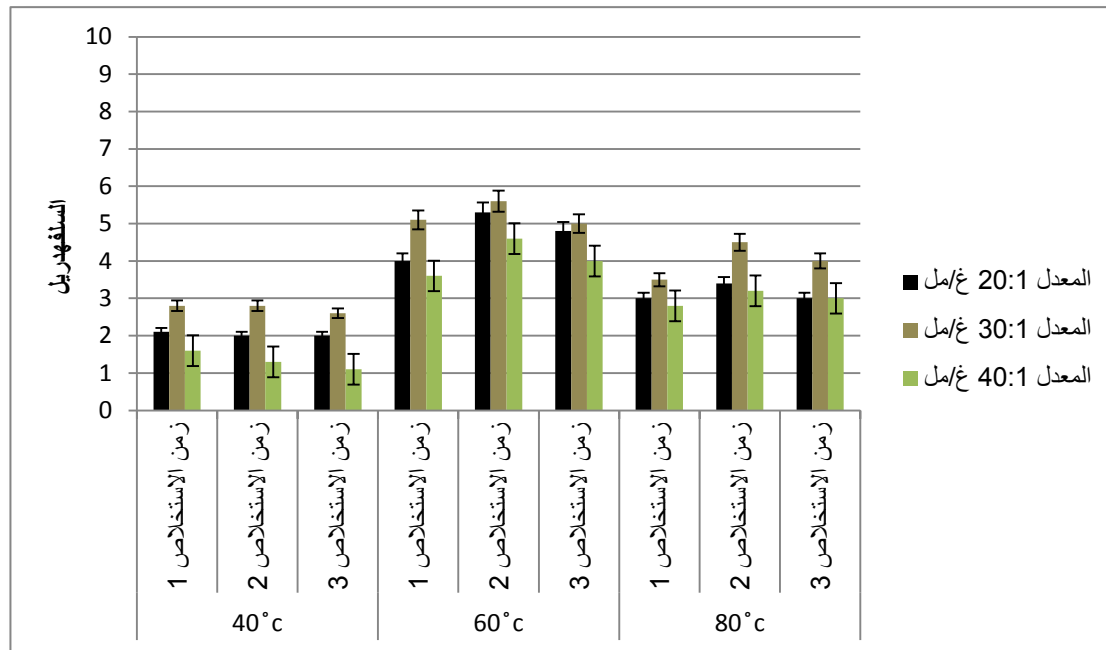
الشكل 11. النسبة المئوية للمحتوى من السلفهديريل لعديد السكاريد الخام المستخلص من طحلب *C. crispata* بوساطة الماء.



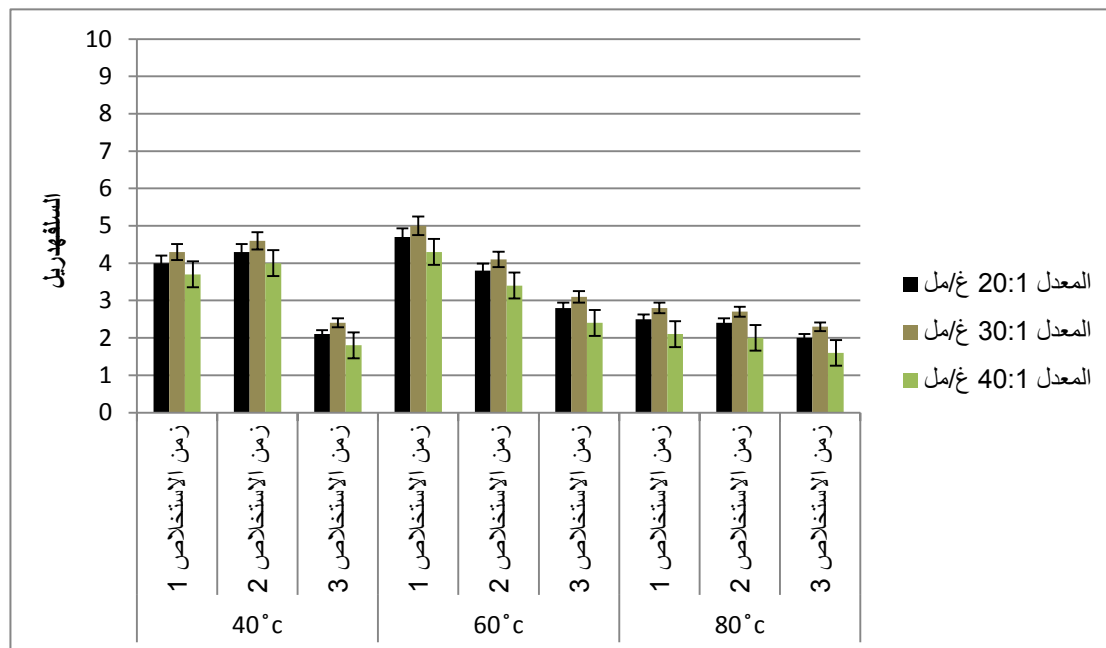
الشكل 12. النسبة المئوية للمحتوى من السلفهيدريل لعدد السكريات الخام المستخلص من طحلب *C. fracta* بواسطة الماء.



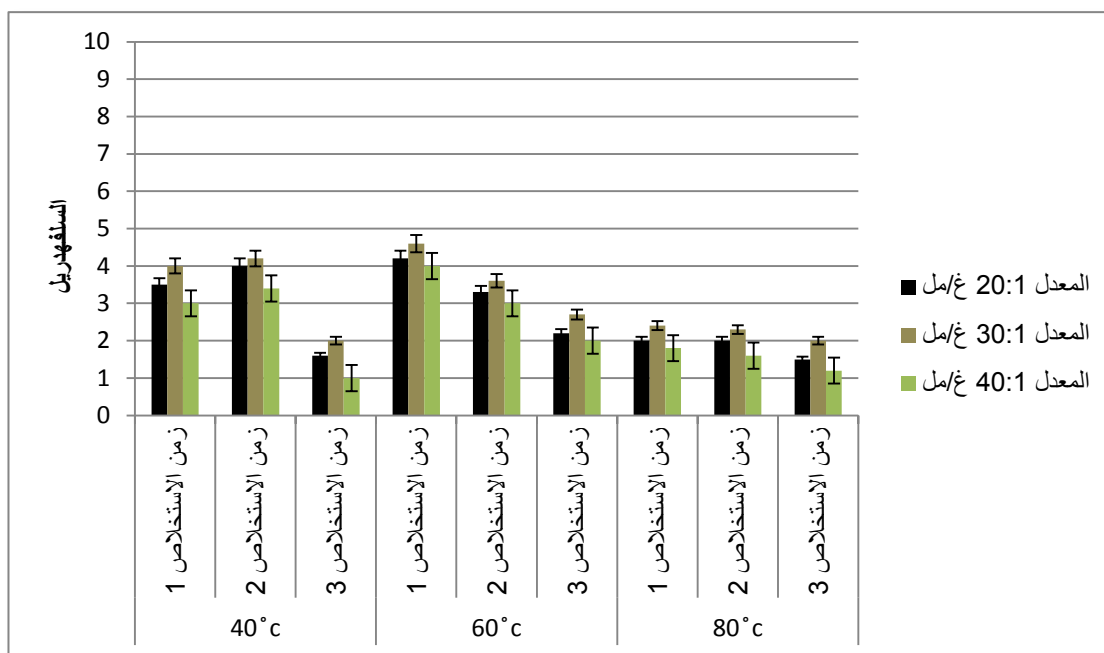
الشكل 13. النسبة المئوية للمحتوى من السلفهيدريل لعدد السكريات الخام المستخلص من طحلب *C. crispatata* بواسطة المتانول 70%.



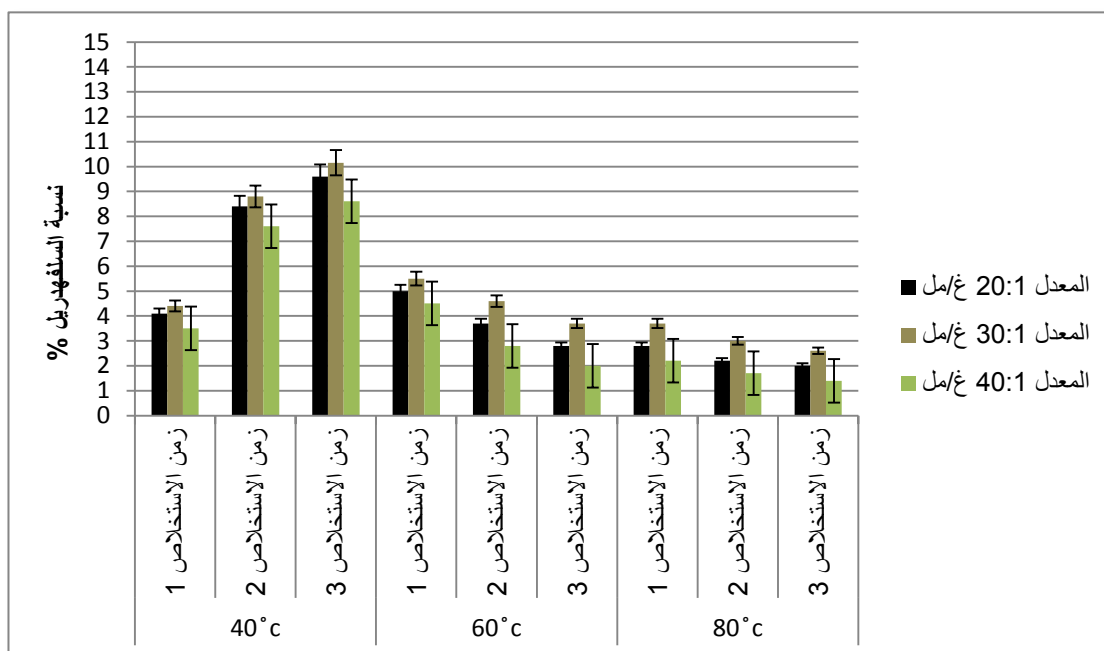
الشكل 14 . النسبة المئوية للمحتوى من السلفهيدريل لعديد السكريات الخام المستخلص من طحلب *C. fracta* بواسطة المتانول 70%.



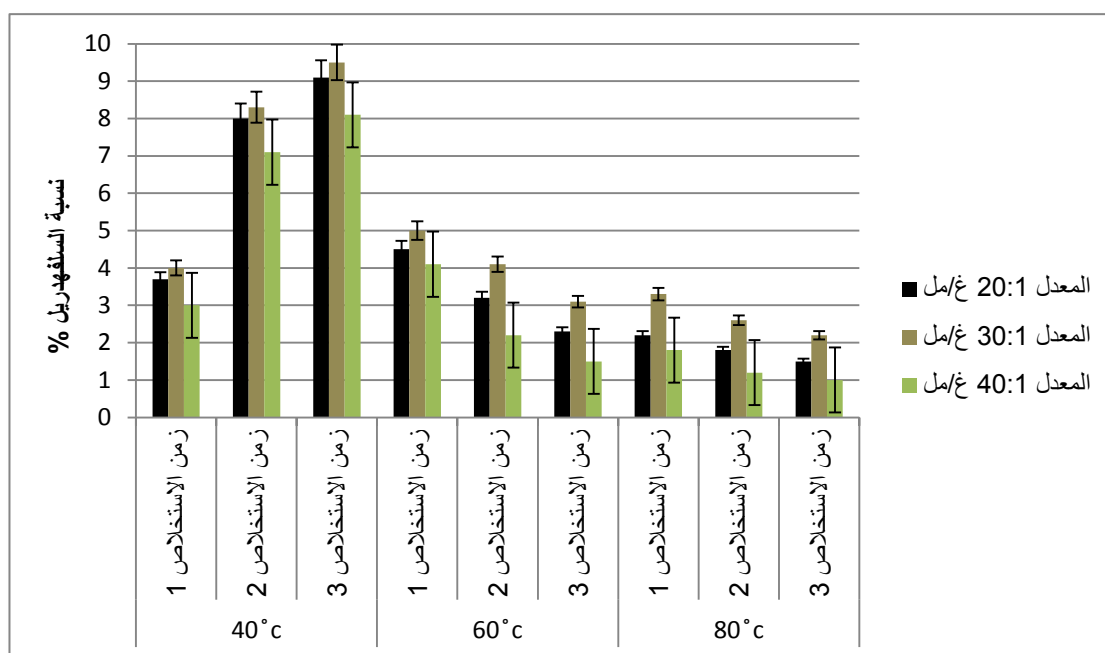
الشكل 15 . النسبة المئوية للمحتوى من السلفهيدريل لعديد السكريات الخام المستخلص من طحلب *C. crispata* بواسطة الإيثانول 70%.



الشكل 16. النسبة المئوية للمحتوى من السلفهيدريل لعدد السكريات الخام المستخلص من طحلب *C. fracta* بواسطة الإيثانول 70%.



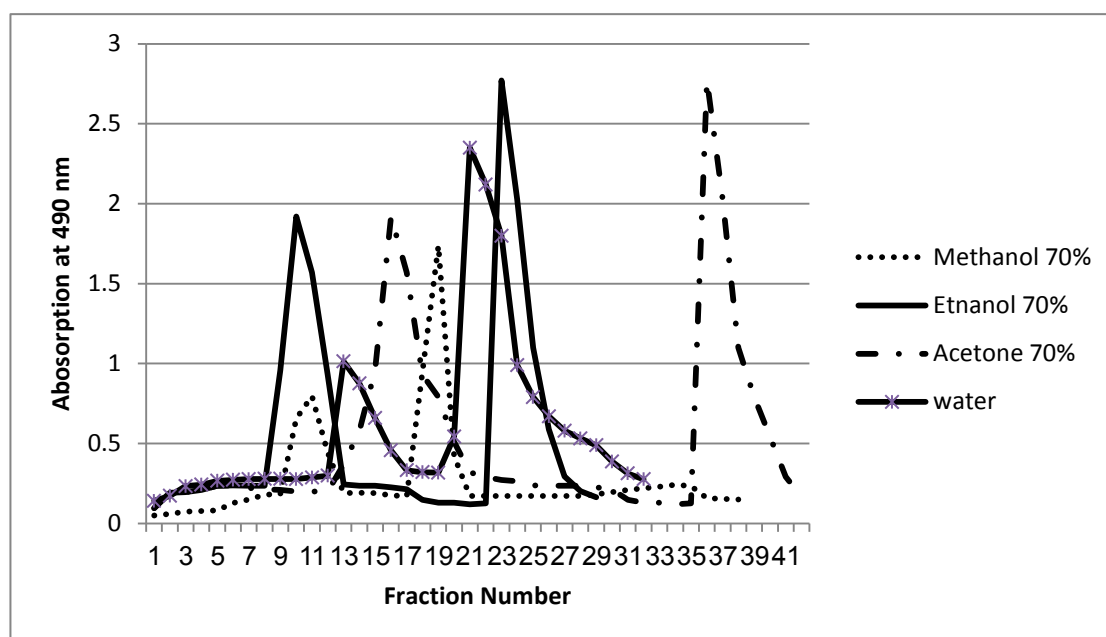
الشكل 17. النسبة المئوية للمحتوى من السلفهيدريل لعدد السكريات الخام المستخلص من طحلب *C. crispata* بواسطة الأسيتون 70%.



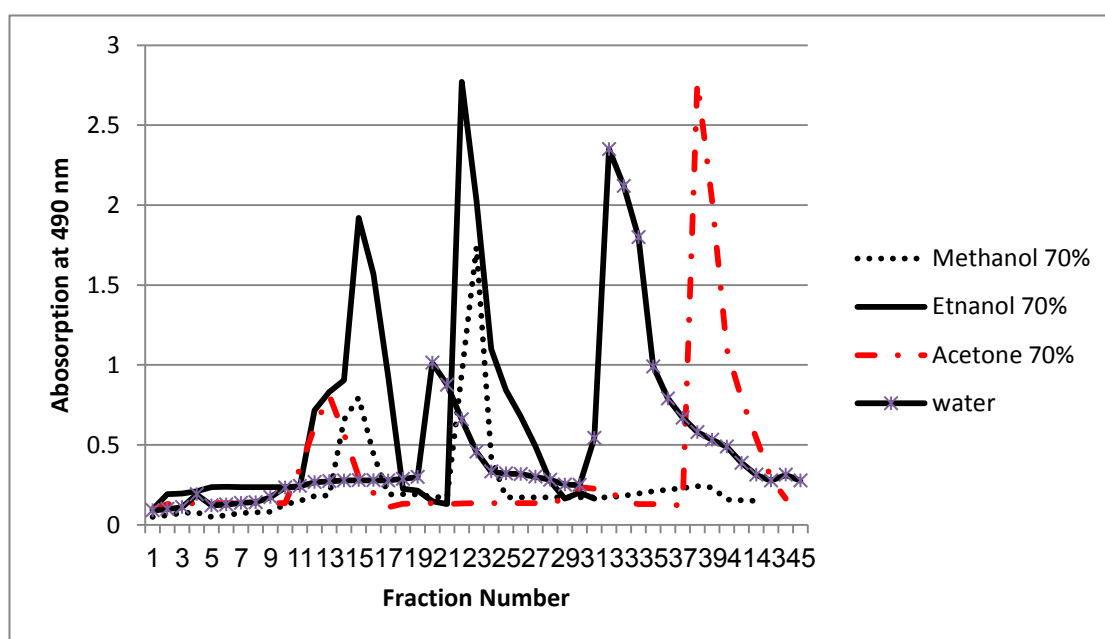
الشكل 18. النسبة المئوية للمحتوى من السلفهيدريل لعديد السكريات الخام المستخلص من طحلب *C. fracta* بوساطة الأسيتون 70%.

### 3-9 - نتائج تنقية عديد السكريات الخام

أُجريت تنقية عديد السكريات الكبريتي الخام بهلام الترشيح للحصول على مركب نقي ذي مواصفات قياسية) محتوى مرتفع من الكربوهيدرات ومنخفض من البروتين)، ومن الشائع استعمال هلام الترشيح Sephadex gel G 100 من أجل تنقية هذا النوع من السكريات ذات المصدر الطحلي (Aguilar-Briseno et al., 2015, 697). إذ تم تنقية عديد السكريات الكبريتي المستخلص بوساطة الماء الناتج من المعاملة (30:1 مل/غ، 60 م°، 120 د.)، والمستخلص بوساطة المتانول 70% الناتج من المعاملة (30:1 مل/غ، 60 م°، 120 د.)، والمستخلص بوساطة الإيثانول 70% الناتج من المعاملة (30:1 مل/غ، 60 م°، 75 د.)، والمستخلص بوساطة الأسيتون 70% الناتج من المعاملة (30:1 مل/غ، 40 م°، 120 د.) لكل من طحلي *C. fructa* و *C. crispata* (الشكلان 19 و 20)، وجرى تحديد الأجزاء المفصولة (القطافات Fraction) بناءً على المحتوى من السكريات الكلية، وافرغت النتائج في الجدول 44، ويتفق ذلك مع نتائج عدد من الأبحاث (Pier et al., 1978, 913, Song et al., 2018, 9).



الشكل 19. القطفات الناتجة عن تنقية عديد السكاريد الكبريتي الخام المستخلص من طحلب *C. crispata* باستعمال هلامية الترشيح Sephadex gel G-100.



الشكل 20. القطفات الناتجة عن تنقية عديد السكاريد الكبريتي الخام المستخلص بواسطة المذيبات المختلفة من

طحلب *C. fracta* باستعمال هلامية الترشيح Sephadex gel G-100.

الجدول 44 . أرقام الأجزاء السكرية المكونة للقطفاة (Fraction) الناتجة عن تنقية عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بالمذيبات المختلفة من طحلي *C.fracta* و *C.crispata*

| النوع   | رقم القطفاة | رقم الأجزاء السكرية بحسب مذيب الاستخلاص |              |               |              |
|---------|-------------|-----------------------------------------|--------------|---------------|--------------|
|         |             | الماء                                   | المتانول 70% | الإيثانول 70% | الأسيتون 70% |
| كرسباتا | الأولى      | 17 - 10                                 | 13 - 9       | 13 - 8        | 21 - 12      |
|         | الثانية     | 27 - 22                                 | 21 - 18      | 27 - 22       | 42 - 34      |
| فركتا   | الأولى      | 17 - 10                                 | 14 - 11      | 17 - 12       | 14 - 11      |
|         | الثانية     | 27 - 22                                 | 24 - 20      | 27 - 24       | 42 - 38      |

### 3-10- مكونات عديدات السكاريد المنقاة

أدت عملية التنقية إلى حصول تغير في نسب مكونات عديد السكاريد الكبريتي لطحالب النوعين *C.crispata* و *C.fracta*، إذ يُلاحظ وجود البروتين ضمن مكونات عديدات السكاريد الخام (الجدول 45 - 52)، كما لوحظ وجود البروتين حتى بعد الترشيح بالهلام، فالبروتين يكون مرتبطاً مع جُدر خلية الطحلب ويرتبط مع عديدات السكاريد بوساطة إستر السلفهديريل الذي يكون شحنة قوية تجذب شحنة البروتين الإيجابية (Peasura et al., 2015, 918)، إذ وجد علاقة ارتباط بين المحتوى من السكريات الكلية والبروتين ( $r=0.73; R^2=0.54$ ). وتشير نتائج التحليل الإحصائي إلى وجود اختلاف ذي دلالة إحصائية في محتوى القطفات من المحتوى من السلفهديريل (باستثناء القطفات المنقاة المستخلص بوساطة الماء من طحلب *C.fracta*، وبوساطة المتانول 70% من طحلب *C.crispata* و *C.fracta*) والحموض السكرية Uranic acide (باستثناء القطفات المنقاة بوساطة الأسيتون 70% من طحلب *C.fracta*).

الجدول 45. التركيب الكيميائي لعديد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة المستخلص بوساطة الماء من طحلب *C.crispata* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %       | السلفات %       | حموض يورانية %*  |
|---------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|
| عديد السكاريد الخام | 74.11±0.0021<br>A | 4.03±0.0019<br>A | 9.2±0.0017<br>C | 2.41±0.025<br>C  |
| القطفاة الأولى      | 59.02±0.003<br>C  | 2.51±0.002<br>B  | 10.2±0.001<br>B | 28.36±0.019<br>A |
| القطفاة الثانية     | 65.33±0.003<br>B  | 1.84±0.0039<br>B | 12.2±0.00<br>A  | 22.71±0.02<br>B  |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 46. التركيب الكيميائي لعدد السكريات الكبرى الخام والقططات المنقاة المستخلص بوساطة الماء من طحلب *C. fracta* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %       | السلفات %       | حموض يورانية %*  |
|---------------------|-------------------|------------------|-----------------|------------------|
| عديد السكريات الخام | 72.64±0.003<br>A  | 2.76±0.0034<br>A | 8.6±0.001<br>A  | 6.35±0.001<br>C  |
| القطعة الأولى       | 53.33±0.004<br>C  | 1.72±0.0034<br>B | 9.2±0.0017<br>A | 25.9±0.001<br>A  |
| القطعة الثانية      | 60.8±0.003<br>B   | 1.26±0.0019<br>B | 9.46±0.003<br>A | 18.35±0.003<br>B |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 47. التركيب الكيميائي لعدد السكريات الكبرى الخام والقططات المنقاة المستخلص بوساطة المتناول 70% من طحلب *C. crispata* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %      | السلفات %      | حموض يورانية %*  |
|---------------------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|
| عديد السكريات الخام | 70.54±0.002<br>A  | 3.8±0.001<br>A  | 6.2±0.001<br>B | 9.45±0.003<br>C  |
| القطعة الأولى       | 58.65±0.003<br>C  | 2.76±0.001<br>B | 7.2±0.001<br>A | 21.39±0.002<br>A |
| القطعة الثانية      | 64.96±0.003<br>B  | 2.41±0.001<br>B | 7.8±0.001<br>A | 14.83±0.003<br>B |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 48. التركيب الكيميائي لعدد السكريات الكبرى الخام والقططات المنقاة المستخلص بوساطة المتناول 70% من طحلب *C. fracta* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %      | السلفات %       | حموض يورانية %*  |
|---------------------|-------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| عديد السكريات الخام | 66.35±0.003<br>A  | 2.41±0.001<br>A | 5.03±0.001<br>B | 15.56±0.003<br>C |
| القطعة الأولى       | 53.45±0.002<br>C  | 2.07±0.001<br>A | 6.1±0.001<br>A  | 28.05±0.003<br>A |
| القطعة الثانية      | 58.64±0.002<br>B  | 1.03±0.001<br>B | 6.63±0.001<br>A | 22.28±0.003<br>B |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 49. التركيب الكيميائي لعدد السكريات الكبرى الخام والقطقات المنقاة المستخلص بوساطة الإيثانول 70% من طحلب *C. crispata* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %      | السلفات %      | حموض يورانية %*  |
|---------------------|-------------------|-----------------|----------------|------------------|
| عديد السكريات الخام | 55.00±0.002<br>A  | 3.2±0.001<br>A  | 5±0.001<br>C   | 26.79±0.003<br>C |
| القطعة الأولى       | 53.82±0.003<br>B  | 2.07±0.000<br>B | 6.1±0.000<br>B | 28.0±0.000<br>A  |
| القطعة الثانية      | 54.01±0.003<br>B  | 1.38±0.000<br>B | 7.6±0.000<br>A | 27.01±0.003<br>B |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 50. التركيب الكيميائي لعدد السكريات الكبرى الخام والقطقات المنقاة المستخلص بوساطة الإيثانول 70% من طحلب *C. fracta* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %     | السلفات %      | حموض يورانية %* |
|---------------------|-------------------|----------------|----------------|-----------------|
| عديد السكريات الخام | 52.40±0.03<br>A   | 5.19±0.04<br>A | 4.34±0.01<br>C | 28.42±0.07<br>C |
| القطعة الأولى       | 49.33±0.03<br>C   | 3.79±0.04<br>B | 5.3±0.01<br>B  | 31.59±0.07<br>A |
| القطعة الثانية      | 51.55±0.03<br>B   | 2.07±0.04<br>C | 6.58±0.01<br>A | 29.8±0.07<br>B  |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 51. التركيب الكيميائي لعدد السكريات الكبرى الخام والقطقات المنقاة المستخلص بوساطة الأسيتون 70% من طحلب *C. crispata* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %       | السلفات %        | حموض يورانية %*  |
|---------------------|-------------------|------------------|------------------|------------------|
| عديد السكريات الخام | 74.36±0.003<br>A  | 2.37±0.000<br>A  | 10.1±0.003<br>C  | 3.12±0.001<br>C  |
| القطعة الأولى       | 63.85±0.003<br>C  | 2.07±0.000<br>AB | 11.1±0.001<br>B  | 12.98±0.005<br>A |
| القطعة الثانية      | 70.15±0.003<br>B  | 1.03±0.000<br>B  | 12.57±0.003<br>A | 6.24±0.003<br>B  |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 52. التركيب الكيميائي لعديد السكاريد الكبريتي الخام والقطفات المنقاة بوساطة الأسيتون 70% من طحلب *C.fracta* على أساس 10% رطوبة.

| المكونات            | السكريات الكلية % | البروتين %      | السلفات %       | حموض يورانية %* |
|---------------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| عديد السكاريد الخام | 71.16±0.007<br>A  | 3.8±0.002<br>A  | 7.59±0.003<br>C | 7.44±0.001<br>B |
| القطفة الأولى       | 60.06±0.003<br>C  | 2.41±0.002<br>B | 8.55±0.001<br>B | 18.9±0.001<br>A |
| القطفة الثانية      | 68.2±0.001<br>B   | 1.38±0.002<br>C | 9.5±0.001<br>A  | 19±0.001<br>A   |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

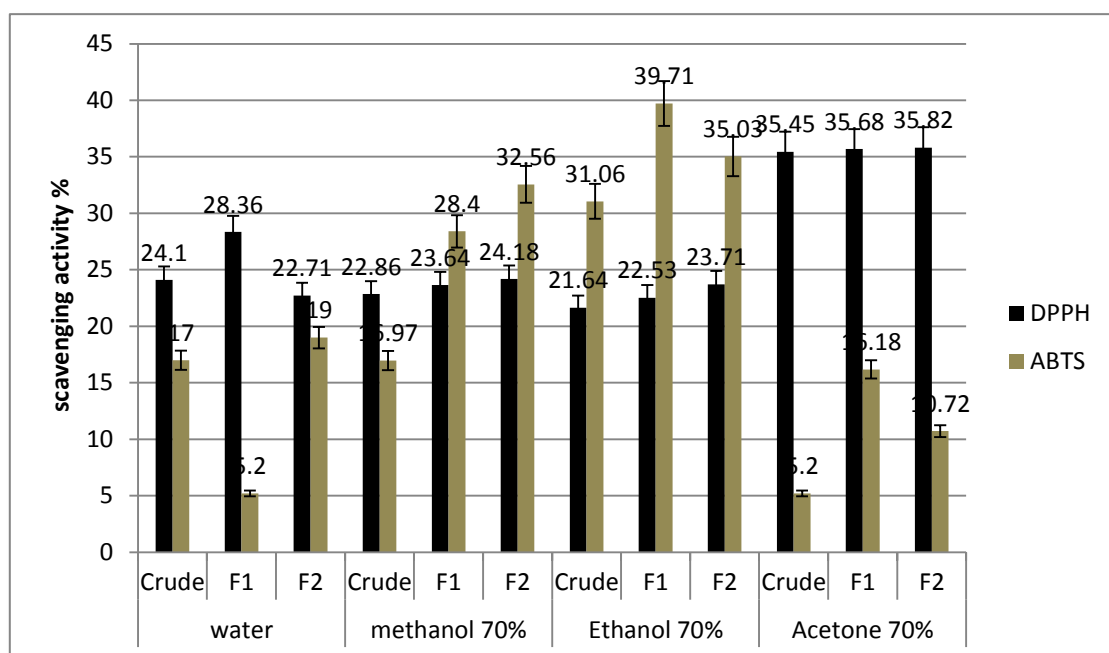
\* حسب النسبة المئوية للحموض السكرية Uranic acid من خلال المعادلة:

الحموض السكرية Uranic acid % = 100 - (المحتوى السكري + المحتوى البروتيني + نسبة السلفهيدريل + المحتوى المائي).

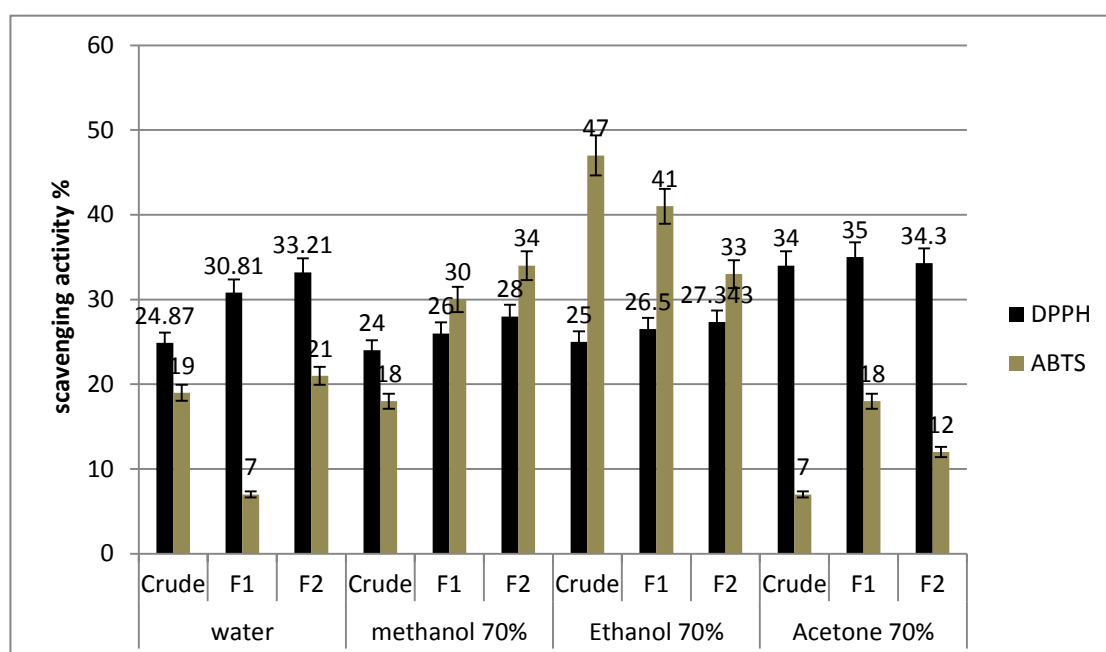
### 3-11- الخواص المضادة للتأكسد لعديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة

#### 3-11-1- بناءً على اختبار DPPH\* واختبار ABTS\*\*

يلاحظ من الشكلين 21 و 22 امتلاك عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بالمذيبات المختلفة من طحلي *C.fracta* و *C.crispata* فاعلية مضادة للتأكسد عند إجراء اختبار DPPH\* واختبار ABTS\*\*، وبالنتيجة أبدت عديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة بوساطة الأسيتون 70%، الماء، المتانول 70% والايثانول 70% على الترتيب أعلى فاعلية مضادة للتأكسد بناءً على اختبار DPPH\*، وعلى النقيض من ذلك فيما يتعلق باختبار ABTS\*\* إذ أعطى عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من الايثانول بالمرتبة الأولى، وعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من الأسيتون بالمرتبة الأخيرة. إذ تتصف مجموعة السلفهيدريل بدور مانح لذرة الهيدروجين، وهذا ما جعل عديد السكاريد الكبريتي الخام (وضمناً القطفات الناتجة عن تنقيته) يكتسب خواصاً مضادة للتأكسد (Imjongjairaka et al.,2016,525)، إضافة إلى أن الحموض السكرية Uranic acid ذات خواص مضادة للتأكسد (Chen et al.,2004,3334).



الشكل 21. الفاعلية المضادة للتأكسد لعدد السكاريد الكبريتي الخام والمنقى المستخلص بظروف مختلفة لطحلب *C. crispata* بناءً على اختبار  $DPPH^{\bullet}$  و  $ABTS^{++}$



الشكل 22. الفاعلية المضادة للتأكسد لعدد السكاريد الكبريتي الخام والمنقى المستخلص بظروف مختلفة لطحلب *C. fracta* بناءً على اختبار  $DPPH^{\bullet}$  و  $ABTS^{++}$

3- 11- 2- معامل الارتباط بين العامل المستقل نسبة السلفهيدريل، الحموض السكرية *Uranic acide* والعامل التابع اختبار  $DPPH^*$  ،  $ABTS^{++}$  لكل من نوعي الطحالب *C. frakta* و *C. crispata* كل على حدة من خلال الجدول 53 وجدت علاقة ارتباط إيجابية ذات دلالة إحصائية (عند مستوى معنوية 1%) بين قيمة اختبار  $DPPH^*$  والمحتوى من السلفات، إذ إن مجموعة السلفات تمنح جذر الهيدروجين إلى مركب  $DPPH^*$  (Dobrincic et al., 2020, 12)، علاوة على ذلك فإن الخواص المضادة للتأكسد التي يتميز بها عديد السكاريد الكبريتي تكون مرتبطة أيضاً بزمرة الهيدروكسيل والتي توقف الفعل التخريري لعملية الأكسدة ومن ثم تمنع تدمير الخلايا. من ناحية أخرى وجدت علاقة ارتباط سلبية ذات دلالة إحصائية (عند مستوى 1%) بين قيمة اختبار  $DPPH^*$  والمحتوى من الحموض السكرية *Uranic acide*، ويتفق ذلك مع Yaich وآخرون (2017, 20) الذي وجد أن الأولفان (الذي يحتوي أقل كمية من الحموض السكرية *Uranic acide*) أبدى أعلى فاعلية مضادة للتأكسد تجاه اختبار  $DPPH^*$ .

الجدول 53 . معامل الارتباط والتحديد بين العامل المستقل نسبة السلفهيدريل، الحموض السكرية *Uranic acide*

والعامل التابع اختبار  $DPPH^*$  ،  $ABTS^{++}$  لكل من نوعي الطحالب *C. frakta* و *C. crispata* كل على حدة

| النوع   | العامل التابع | معامل الارتباط R | العامل التابع | معامل الارتباط R |
|---------|---------------|------------------|---------------|------------------|
| كرسباتا | $DPPH^*$      | 0.94             | $DPPH^*$      | -0.75            |
|         | $ABTS^{++}$   | -0.70            | $ABTS^{++}$   | 0.54             |
| فركتا   | $DPPH^*$      | 0.73             | $DPPH^*$      | -0.28            |
|         | $ABTS^{++}$   | -0.73            | $ABTS^{++}$   | 0.66             |

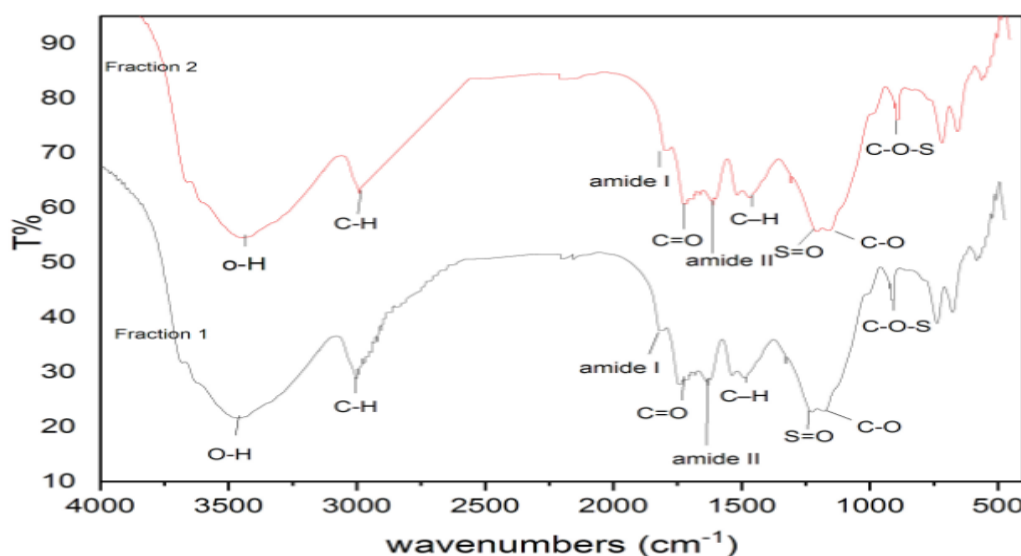
كما يلاحظ من الجدول 53 وجود علاقة ارتباط سلبية (عند مستوى 1%) بين قيمة اختبار  $ABTS^{++}$  والمحتوى من السلفات في حين هو على النقيض من ذلك بالنسبة للحموض السكرية، ووجد أن الحموض السكرية السكرية *Uranic acide* هي العامل الحاسم في منح الخواص المضادة للتأكسد لعديد السكاريد المستخلص من أوراق الشاي (Chen et al., 2004, 3334).

وجد باحثون أن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب *Gloiopeltis furcata* والذي يحتوي على محتوى عال من السلفات وآخر منخفض من الحموض السكرية *Uranic acide* قد أبدى أدنى فاعلية مضادة للتأكسد تجاه اختبار  $ABTS^{++}$  (Shao et al., 2013, 159-160).

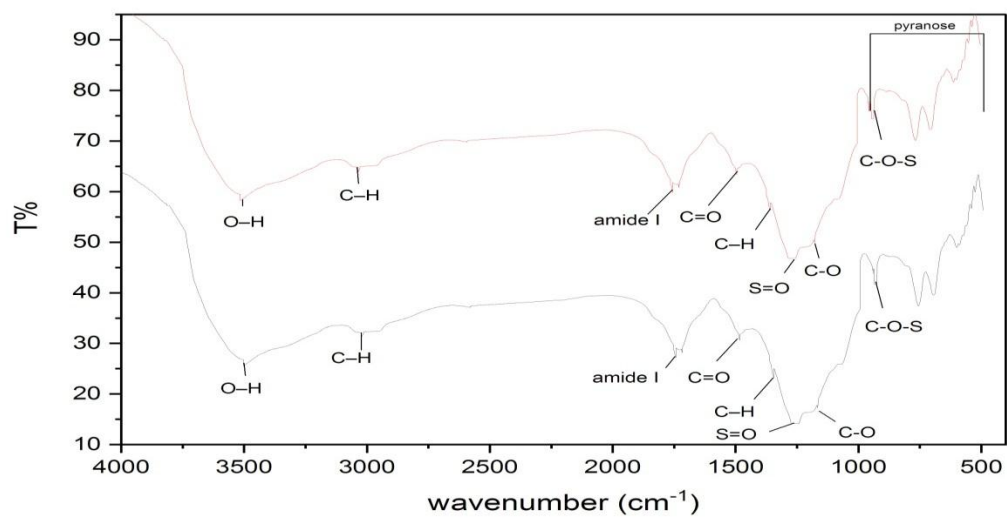
كما أخبرت دراسة أخرى أن عديد السكاريد المستخلص من فطر *Agaricus blazei Murrill* الذي يمتلك أعلى محتوى من الحموض اليورانية قد أبدى أعلى فاعلية مضادة للتأكسد تجاه اختبار  $ABTS^{++}$  (Wu et al., 2014, 416). تشير نتائج هذا البحث إلى أن المحتوى من السلفات ليس الوحيد الذي يمنح الفاعلية المضادة للتأكسد لعديد السكاريد الكبريتي، وتتفق هذه الدراسة مع (Shao et al., 2013, 160).

## 3 - 12 - تفسير طيف الأشعة تحت الحمراء لعديدات السكاريد الكبريتية

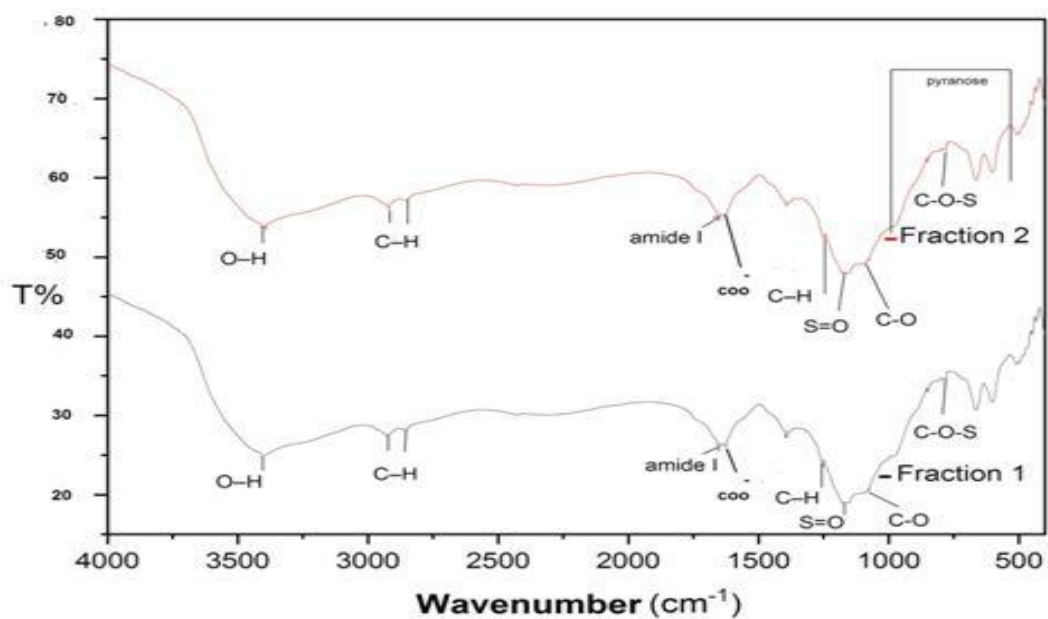
تُوضح الأشكال 23 - 26؛ أن طيف الأشعة تحت الحمراء لكل القمم المكونة للأجزاء المفصولة (القطافات Fractions) من عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة المذيبات المختلفة لنوعي الطحالب *C. crispata* و *C. fracta*، تُوضح الأشكال أن لكل قطفة كان لها طيف الأشعة تحت الحمراء نفسها مع وجود فروق بسيطة فيما يخص الطول الموجي للزمر الوظيفية وحدة القمم الموجية وشكلها، إذ إن الاهتزاز المط لزمرة الهيدروكسيل O-H عند الطول الموجي 3390 - 3411 سم<sup>-1</sup>، كما وُجد الاهتزاز المط للألكيل عند الطول الموجي 2828-2929 سم<sup>-1</sup> وكان الانحناء لهذه الزمرة عند الطول الموجي 1390-1401 سم<sup>-1</sup>، وإن وجود القمة عند الطول الموجي 1550-1556 سم<sup>-1</sup> يشير إلى وجود الأمين الثانوي، وإن الاهتزاز المط غير المتماثل للكربوكسيلات C=O لوحظ عند الطول الموجي 1625 سم<sup>-1</sup>، والتي تُشير إلى وجود الحموض السكرية Uranic acide، وإن التردد المط عند الطول الموجي 1240-1255 سم<sup>-1</sup> يشير إلى وجود إستر السلفات، ويشير التردد المط عند الطول الموجي 1071-1074 سم<sup>-1</sup> إلى زمرة الإيثر الدالة على وجود الرابطة الغليكوزيدية، وإن التردد المنحني عند الطول الموجي 847-851 سم<sup>-1</sup> يشير إلى مجموعة السلفات (C-O-S)، كما أن وجود القمم عند الأطوال الموجية 590-1109 سم<sup>-1</sup> تشير إلى وجود وحدات البيرانوس pyranose (Boulet et al.,2007,82; Peasura et al.,2015,916; Song et al.,2018,12; He et al.,2021,15).



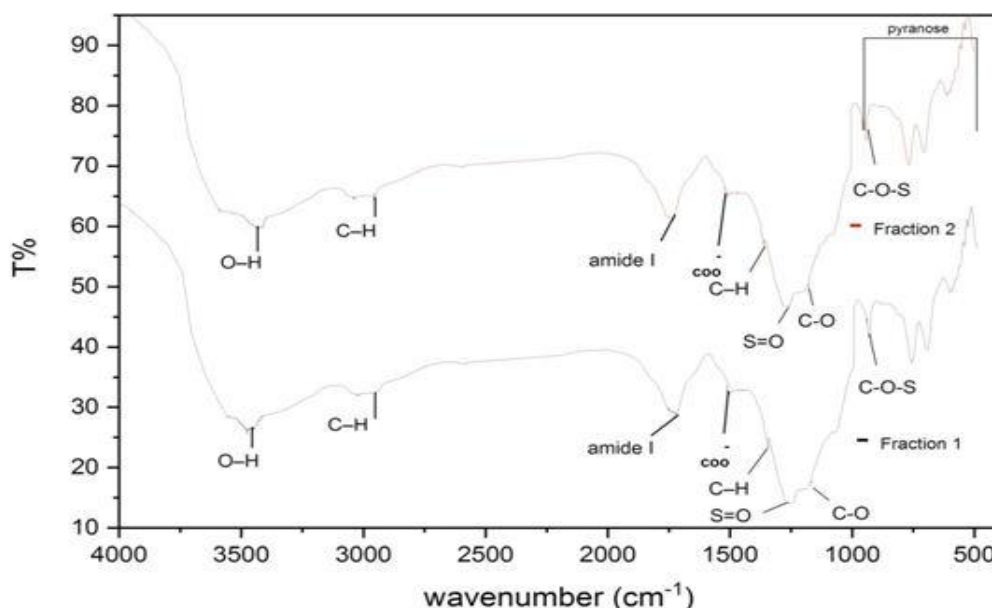
الشكل 23. طيف الأشعة تحت الحمراء لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي *C. fracta* و *C. crispata* بوساطة الماء.



الشكل 24. طيف الأشعة تحت الحمراء لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي *C. crispata* و *C. fracta* بواسطة الميثانول 70%.



الشكل 25. طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي *C. crispata* و *C. fracta* بواسطة الإيثانول 70%.



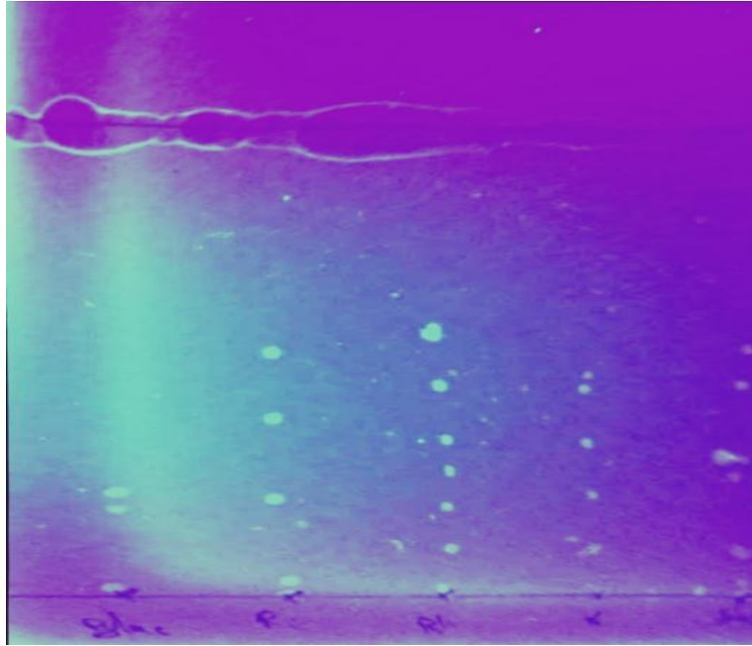
الشكل 26. طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلي *C. crispata* و *C. fracta* بواسطة الأسيتون 70%.

### 3 - 13 - السكريات البسيطة المكونة لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص

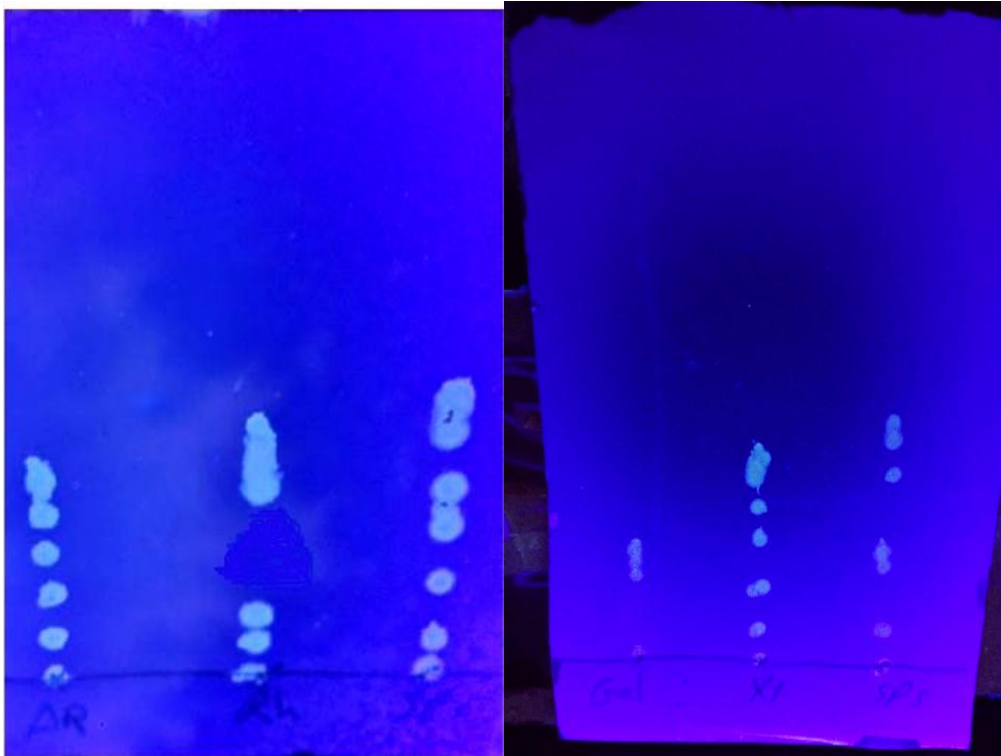
كانت السكريات البسيطة المكونة لعديد السكاريد المستخلص من طحلب *C. crispata* (بناءً على الفصل باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة) هي: الغالاكتوز، الرامنوز، الكزيلوز و الريبوز (الشكل 27)، والمسافة النسبية  $R_f$  هي: 16، 34، 25، 20% على الترتيب. وتكون عديد السكاريد المستخلص من طحلب *C. fracta* من: الغالاكتوز، الرامنوز، الكزيلوز والأرايينوز (الشكل 28)، والمسافة النسبية  $R_f$  هي: 16، 34، 25، 22% على الترتيب.

أكدت النتائج السابقة باستعمال تقنية الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء HPLC كما هو مبين في الشكلين 29 و 30، إذ تكون عديد السكاريد المستخلص من طحلب *C. crispata* من الغالاكتوز 12.3%، الرامنوز 11.49%، الكزيلوز 10.5% والريبوز 13.3%، وتطابقت هذه النتائج مع دراسة سابقة (Athbi et al 2012)، وتكون عديد السكاريد المستخلص من طحلب *C. fracta* من الغالاكتوز 11.8%، الرامنوز 10.9%، الكزيلوز 10.3% والأرايينوز 12.9%.

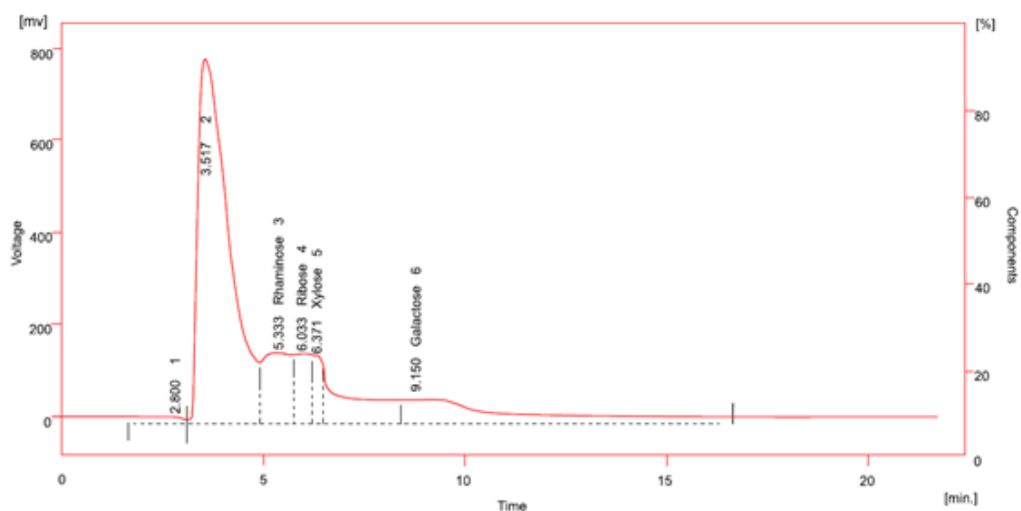
تتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة، إذ استخلص عديد السكاريد الكبريتي من طحالب المياه العذبة الخضراء *Cladophora surera*، وتم تحديد الوحدات السكرية المكونة له باستعمال تقنية الكروماتوغرافيا الغازية وتبين أنه يتكون من الغلوكوز، الغالاكتوز، الرامنوز، الكزيلوز والأرايينوز، مع إمكانية تواجد سكريات بسيطة أخرى ضمن هذا المكون إلا أن ذلك يعتمد على وسط نمو الطحالب (Arata et al., Kidgell et al., 2019, 2017, 6;



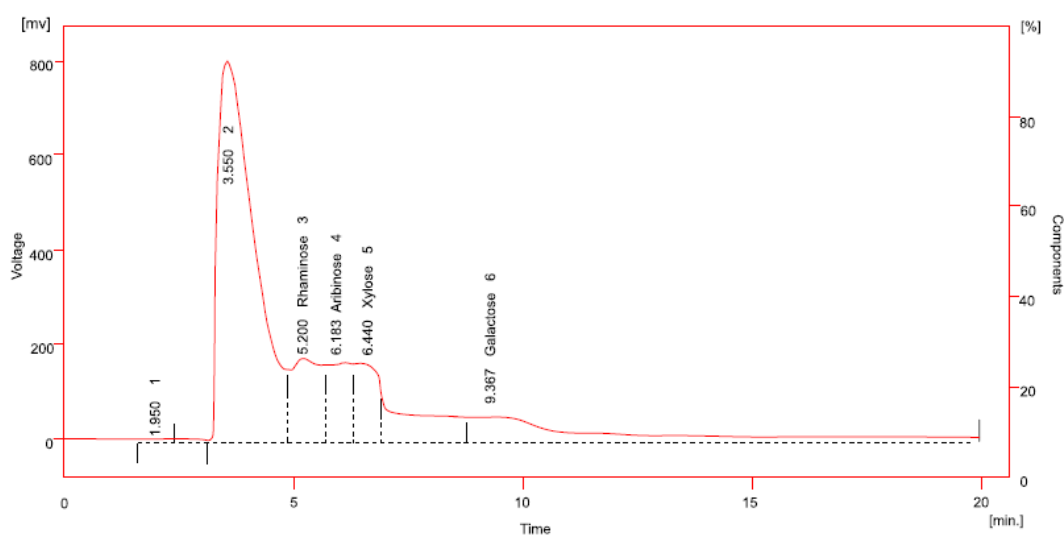
الشكل 27. نتائج فصل عديد السكاريد على ألواح السيليكا، الكزيلوز (Xy)، الغالاكتوز (Gal)، الرامنوز (Rh)، الريبوز (Ri) لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب *C. crispata*



الشكل 28 . نتائج فصل عديد السكاريد على ألواح السيليكا، الكزيلوز (Xy)، الغالاكتوز (Gal)، الرامنوز (Rh) الأرابينوز (AR) لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من *C. fracta*



الشكل 29. التحليل الكروماتوغرافي بتقنية HPLC لعدد السكريات الكبريتي المستخلص من طحلب *C. crispata*



الشكل 30. التحليل الكروماتوغرافي بتقنية HPLC لعدد السكريات الكبريتي المستخلص من *C. fracta*.

## 3 - 14 - الخواص الفيزيائية لعديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة

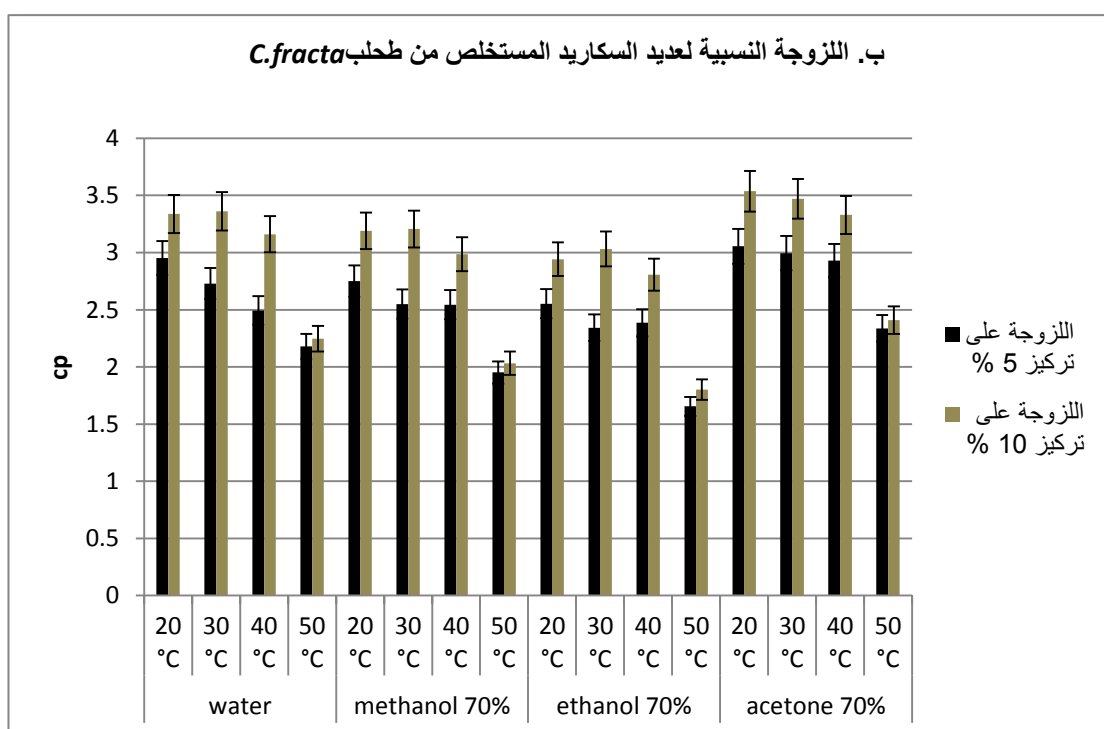
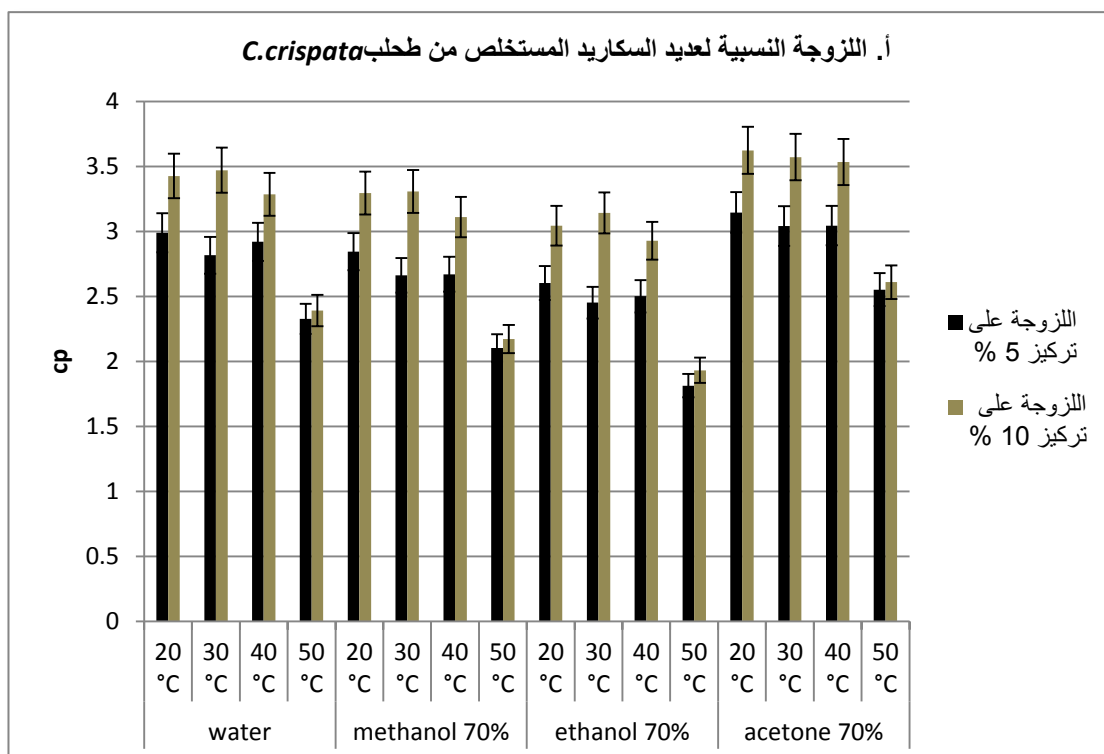
## 3 - 14 - 1 - نتائج اللزوجة النسبية

تعرف اللزوجة بأنها مقاومة السوائل للتدفق، وهي تتعلق بمكونات المادة، ودرجة حرارتها (Halpern and Rao,1977,136; Reeves,1988)، كلما زادت اللزوجة قلت سرعة الانسياب والتي تعتبر من الخواص المفيدة في التطبيقات الغذائية (سلمان و العبادي، 2009، 70).

من خلال الشكل 31 يُلاحظ أن اللزوجة النسبية على تركيز المحلول من عديد السكاريد 10% هي أعلى مما هي عليه عند التركيز 5%، ويتفق ذلك مع نتائج الباحثين (Shao *et al.*2014,368; Subramanian *et al.*,2015,769)، وبغض النظر عن تركيز محلول عديد السكاريد، فقد وجد أن اللزوجة النسبية تناقصت بارتفاع درجة حرارة القياس، ويتفق ذلك مع نتائج الباحثين (Mahmood and Siddique,2010,118; Al-ahmad and Al-deri,2012,27; Shao *et al.*,2014,369)؛ ويمكن تفسير هذه الظاهرة بالتغيرات التي تحصل في مظهر البلمر بفعل الحرارة وتحوله إلى تركيب حلزوني عشوائي وهذا ما يؤدي إلى قلة تجمع الجزيئات يتبعه انخفاض في لزوجة المحاليل (Noorlaila *et al.*,2015,786).

يعتبر السكروز من أكثر السكريات استعمالاً في الصناعات الغذائية ولقد لوحظ حصول انخفاض في درجة لزوجته بارتفاع درجة حرارة القياس، فقد كانت قيم اللزوجة 1.26 سنتي بواز على درجة حرارة قياس 20 م و 0.66 سنتي بواز على درجة حرارة قياس 50 م وذلك على تركيز محلول سكري 10% (هذا وارتفعت قيم اللزوجة بارتفاع تركيز محلول السكري للسكروز)، يتضح من خلال الشكل 31 أن لزوجة عديدات السكاريد المستخلصة من كلا نوعي طحالب الكلادوفورا ذات لزوجة أعلى من السكروز، حيث يستفاد من خاصية اللزوجة وتأثيرها بدرجة الحرارة من أجل تحديد الخواص الريولوجية فقط للأغذية السائلة مثل عصائر الفواكه والعسل والحليب والقهوة وغيرها ويسمى هذا التأثير بـ Arrhenius model (Telis *et al.*,2007,188).

ويتضح من الشكل 31 أن عديد السكاريد المستخلص بوساطة الأسيتون 70% قد أعطى أعلى قيم للزوجة النسبية في كلا النوعين من الطحالب 3.3 حتى 3.6 سنتي بواز، تبعه عديد السكاريد المستخلص بوساطة الماء، المتانول 70% ثم الايتانول 70% ما يشير إلى اختلاف عديدات السكاريد في أوزانها الجزيئية، إذ تزداد اللزوجة بازدياد الوزن الجزيئي للبلمرات (Al-ahmad and Al-deri,2012,29). كما يتبين أن عديدات السكاريد المستخلصة من طحالب كladofora هي من النوع الأليف للماء كونها أعطت قيم لزوجة عالية على التراكيز المنخفضة من محاليلها.



الشكل 31. اللزوجة النسبية لعدد السكريات الكبرى المستخلص من طحلي أ: *C. crispata* وب: *C. fracta* على تركيز 5% و 10%

## 3 - 14 - 2- نتائج قياس قرينة الانكسار

من خلال الجدولين 54 و 55 يُلاحظ ازدياد معامل الانكسار مع ازدياد تركيز محلول عديد السكاريد الكبريتي، إذ لوحظت فروق ذات دلالة إحصائية لقيم قرينة الانكسار عند تغير تركيز عديد السكاريد الكبريتي، كما لوحظ وجود فروق معنوية (1%) ضمن المعاملات عند تغير درجة حرارة القياس، ووجد انخفاض قيمة معامل الانكسار بزيادة درجة حرارة القياس ويتفق ذلك مع (النصراوي، 2011، 278)، مع الإشارة إلى عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات التي استخلص بها عديد السكاريد الكبريتي بوساطة الماء و الأسيتون 70%، وبين المتانول 70% والايثانول 70%. كما وجد أن أعلى قيم لمعامل الانكسار 1.3951، 111.39 كانت في معاملات عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الأسيتون 70% من طحلي *C. crispata* و *C. fracta* على التوالي؛ والذي يحتوي على أعلى محتوى كربوهيدراتي. ولما كان غرض استعمال قراءات الرفاكتومتر هو الكشف عن درجة نقاوة المركبات فتؤكد هذه الدراسة على أن عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الأسيتون 70% هو الأكثر نقاوة.

جدول 54. نتائج قياس قرينة الانكسار لعددات السكايد المستخلصة من طحلب *C. crispata*

| تركيز المحلول       |                     | درجة الحرارة | مذيب الاستخلاص |
|---------------------|---------------------|--------------|----------------|
| % 10                | % 5                 |              |                |
| 1.3919±0.002a<br>A  | 1.3792±0.001b<br>A  | 20           | الماء          |
| 1.3811±0.001a<br>B  | 1.3690±0.0005b<br>A | 30           |                |
| 1.3794±0.002a<br>B  | 1.3583±0.002b<br>B  | 40           |                |
| 1.3681 ±0.001a<br>C | 1.3465±0.001b<br>C  | 50           |                |
| 1.3672 ±0.001a<br>D | 1.3363±0.001b<br>D  | 60           |                |
| 1.3769±0.001a<br>A  | 1.3634±0.002b<br>A  | 20           | %70 المتانول   |
| 1.3662±0.002a<br>B  | 1.3518±0.0005b<br>B | 30           |                |
| 1.3546±0.001a<br>C  | 1.3406±0.002b<br>C  | 40           |                |
| 1.3430±0.002a<br>D  | 1.3385±0.002b<br>D  | 50           |                |
| 1.3313±0.001a<br>E  | 1.3274±0.002b<br>E  | 60           |                |
| 1.3763±0.001a<br>A  | 1.3618±0.001b<br>A  | 20           | %70 الإيثانول  |
| 1.3655±0.002a<br>B  | 1.3510±0.0005b<br>B | 30           |                |
| 1.3544±0.0005a<br>C | 1.3493±0.001b<br>BC | 40           |                |
| 1.3423±0.001a<br>D  | 1.3372±0.002b<br>C  | 50           |                |
| 1.3402±0.001a<br>D  | 1.3249±0.001b<br>C  | 60           |                |
| 1.3951±0.002a<br>A  | 1.3726±0.001b<br>A  | 20           | %70 الأسيتون   |
| 1.3808±0.001a<br>A  | 1.3679±0.0005b<br>A | 30           |                |
| 1.3787±0.001a<br>B  | 1.3538±0.002b<br>B  | 40           |                |
| 1.3653±0.0005a<br>C | 1.3465±0.002b<br>C  | 50           |                |
| 1.3520±0.001a<br>D  | 1.3352±0.0005b<br>D | 60           |                |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

جدول 55. نتائج قياس قرينة الانكسار لعددات السكاويد المستخلصة من طحلب *C. fracta*

| تركيز المحلول       |                     | درجة الحرارة | مذيب الاستخلاص |
|---------------------|---------------------|--------------|----------------|
| % 10                | % 5                 |              |                |
| 1.3879 ±0.002a<br>A | 1.3755 ±0.001b<br>A | 20           | الماء          |
| 1.3771±0.001a<br>A  | 1.3650 ±0.002b<br>A | 30           |                |
| 1.3654 ±0.002a<br>B | 1.3545±0.001b<br>B  | 40           |                |
| 1.3541 ±0.001a<br>C | 1.3426±0.001b<br>C  | 50           |                |
| 1.3432 ±0.001a<br>D | 1.3320±0.002b<br>D  | 60           |                |
| 1.3729±0.002a<br>C  | 1.3592±0.001b<br>C  | 20           | % 70 المتانول  |
| 1.3622±0.001a<br>C  | 1.3487±0.002b<br>C  | 30           |                |
| 1.3502±0.001a<br>D  | 1.3366±0.0005b<br>D | 40           |                |
| 1.3492±0.002a<br>E  | 1.3244±0.001b<br>E  | 50           |                |
| 1.3474±0.001a<br>E  | 1.3233±0.002b<br>E  | 60           |                |
| 1.3722±0.002a<br>C  | 1.3577±0.001b<br>C  | 20           | % 70 الايتانول |
| 1.3611±0.001a<br>C  | 1.3471±0.002b<br>C  | 30           |                |
| 1.3501±0.0005a<br>D | 1.3355±0.001b<br>D  | 40           |                |
| 1.3483±0.001a<br>E  | 1.3233±0.0005b<br>E | 50           |                |
| 1.3462±0.001a<br>E  | 1.3207±0.002b<br>E  | 60           |                |
| 1.3911 ±0.002a<br>A | 1.3786±0.001b<br>A  | 20           | %70 الأسيتون   |
| 1.3868±0.002a<br>A  | 1.3641±0.001b<br>A  | 30           |                |
| 1.3749±0.002a<br>B  | 1.3599±0.001b<br>B  | 40           |                |
| 1.3613±0.001a<br>C  | 1.3425±0.002b<br>C  | 50           |                |
| 1.3583±0.002a<br>D  | 1.3312±0.001b<br>D  | 60           |                |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

## 3 - 14 - 3 - نتائج قياس درجة الانصهار

يُلاحظ من خلال الجدول 56 وجود تباين في قيم درجة الانصهار لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص بظروف مختلفة ومن نوعيني الطحالب، إذ كان لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الأسيتون 70% أعلى قيمة لدرجة الانصهار (238 - 247 م°)، حيث تتأثر درجة الانصهار بالوزن الجزيئي للمركب، ودرجة نقاوة المركبات، وتزداد قيمة درجة الانصهار بزيادة الوزن الجزيئي و درجة النقاوة (Al-Bermany, 2004,63; Zayed *et al*,2016,8)، ويمكن القول إن عدد السكاريد الكبريتي المستخلص بالأسيتون 70% هو الأعلى بالوزن الجزيئي والأكثر نقاوة. وأياً كان مصدر عدد السكاريد الكبريتي وطريقة استخلاصه فإن له أعلى قيمة لدرجة الانصهار مقارنة بالسكرور، وتعطي درجة الانصهار فكرة عن ثباتية أو استقرار المركبات ضمن المعاملات الحرارية المرتفعة خلال عمليات التصنيع الغذائي كما في صناعة المخبوزات (Khan and Liu 2019,560).

الجدول 56. نتائج قياس درجة الانصهار لعددات السكاريد المستخلصة من طحلي *C. frakta* و *C. crispata*

| المذيب / الطحلب | كرسباتا         | فركتا           |
|-----------------|-----------------|-----------------|
| الماء           | 229 ±2a<br>B    | 221 ±1.15b<br>B |
| المتانول 70%    | 219 ±1.15a<br>C | 214 ±1b<br>C    |
| الايثانول 70%   | 207 ±1.15a<br>D | 198 ±1b<br>D    |
| الأسيتون 70%    | 247 ±2a<br>A    | 238 ±2b<br>A    |
| سكرور (شاهد)    | 185±2           |                 |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.  
A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

## 3 - 14 - 4 - نتائج القطبية

من خلال الجدول 57 يُلاحظ أن قيم الدوران البصري لعددات السكاريد كانت سالبة، ويتفق ذلك مع دراسات سابقة أشارت إلى أن عددات السكاريد المستخلصة من الطحالب الخضراء كانت ذات قيم سالبة للدوران البصري (Tako *et al*,2015,651; Yu *et al*,2016,8)، مع وجود فروق في قيم الدوران البصري بين بعض المعاملات، وكان لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الأسيتون 70% أعلى قيم للدوران البصري، ولم يؤثر ازدياد تركيز المحلول السكري في قيمة الدوران البصري. إن نتائج الدوران البصري لا تتعلق بالوحدات السكرية فقط، بل يمكن أن يكون مرتبطاً بنوع الرابطة a أم B بين الوحدات السكرية و نوع المماكب L, D (Yamamotoy *et al*,1980,725; Zayed *et al*,2016,4)، كما أن زمرة السلفهدريل كان لها دور في

ذلك (Adhikari *et al.*, 2006, 2480). ويلاحظ مما سبق أن عديد السكاريد المستخلص من المعاملات المختلفة هو مادة فعالة ضوئية وهو من السكريات التي تمتلك خاصية التماكب الضوئي الأنانتيوميرية (Enantiomers)

الجدول 57. نتائج قياس القطبية لعديدات السكاريد المستخلصة من طحلي *C. fracta* و *C. crispata*

| نوع الطحلب | مذيب الاستخلاص / تركيز المحلول | % 5               | % 10             |
|------------|--------------------------------|-------------------|------------------|
| كرسباتا    | الماء                          | 6.4 ± 1a<br>B     | 7.1 ± 0.2a<br>C  |
|            | الأسيتون 70 %                  | 8.2 ± 0.2a<br>A   | 9 ± 1a<br>A      |
|            | المتانول 70 %                  | 6.7 ± 0.2a<br>B   | 7 ± 1a<br>C      |
|            | الايثانول 70 %                 | 5.2 ± 0.11a<br>BC | 6 ± 1a<br>D      |
| فركتا      | الماء                          | 5.8 ± 0.2a<br>B   | 6.8 ± 0.2a<br>CD |
|            | الأسيتون 70 %                  | 7.8 ± 0.2a<br>A   | 8.2 ± 0.2a<br>B  |
|            | المتانول 70 %                  | 6 ± 1a<br>B       | 6.6 ± 0.2a<br>CD |
|            | الايثانول 70 %                 | 5 ± 2a<br>C       | 5.8 ± 0.11a<br>D |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن الصف نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.  
A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

### 3- 15- نتائج الاختبارات الميكروبية

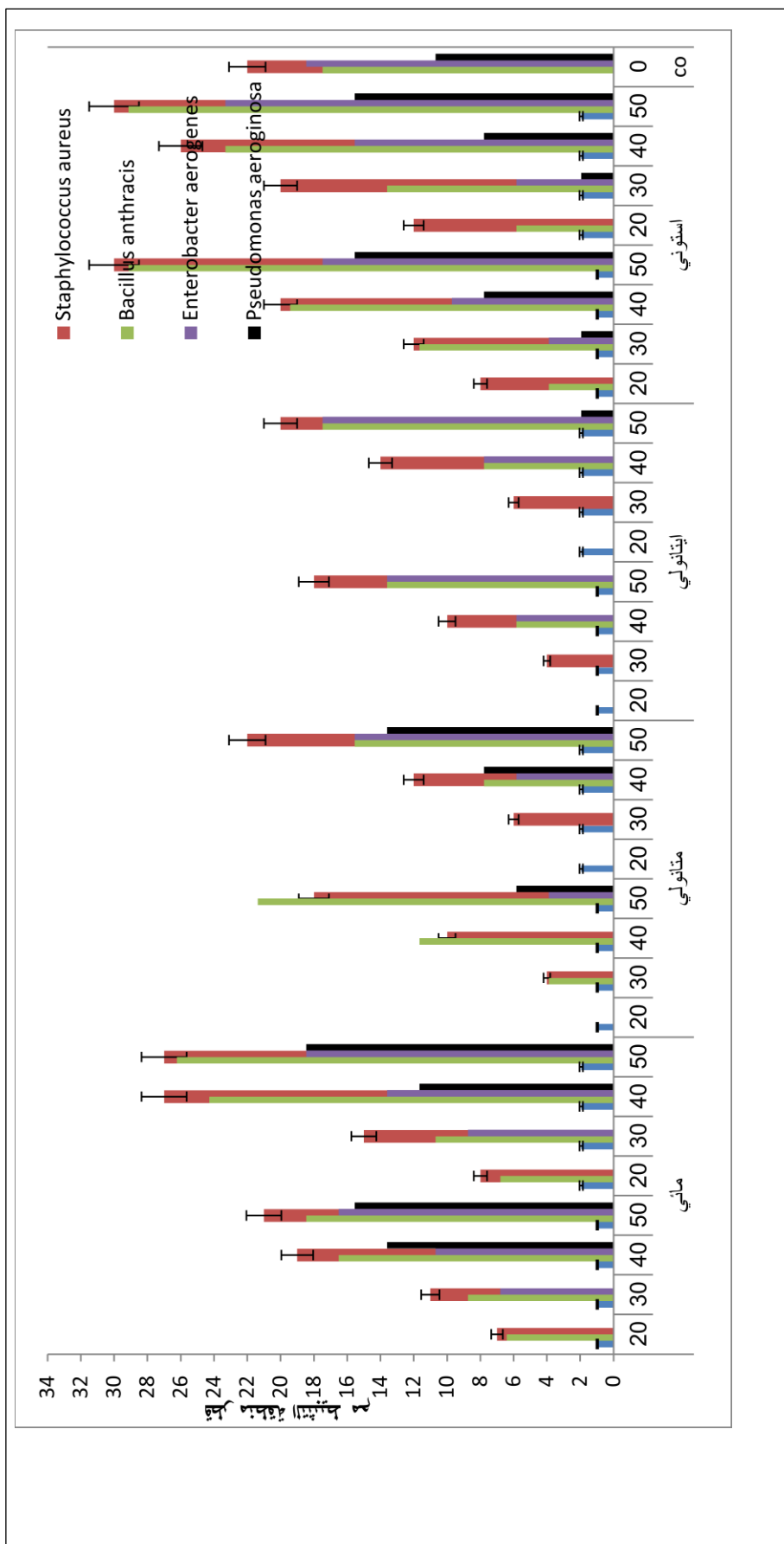
#### 3- 15- 1- التحري عن وجود السموم (Toxins)

كانت نتيجة اختبار الكشف عن تلوث عديدات السكاريد الكبريتية بالسموم سلبية إذ لم يلاحظ تغير في لون وسط النمو، وهذا يُعد دليلاً على عدم وجود الفطريات المفترزة للسموم.

#### 3- 15- 2- الخواص المضادة للبكتريا لعديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة

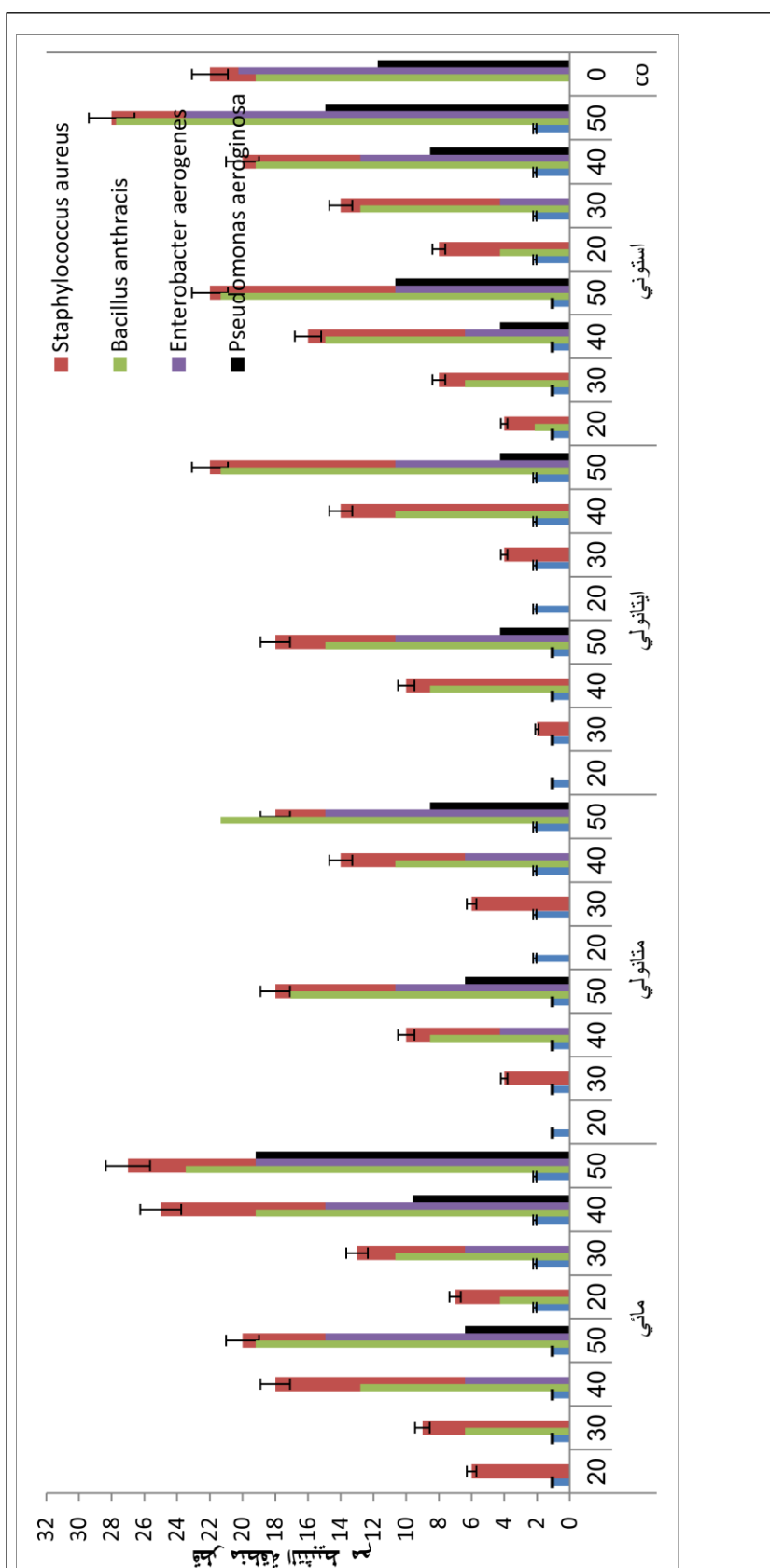
تعرض كلا نمطي البكتريا إيجابية الغرام G+ وسلبية الغرام G- للتنشيط بالقطرات المنقاة (Fractions) من عديدات السكاريد الكبريتية المستخلص بالمذيبات المختلفة من طحلي *Cladophora crispata* و *fracta*، كانت بكتريا G+: *Bacillus anthracis* و *Staphylococcus aureus* أكثر حساسية تجاه عديدات السكاريد (الشكل 32 و 33)، ويتفق ذلك مع نتائج (Berri *et al.*, 2016, 10)، إذ إن البكتريا

G+ تميل لأن تكون أكثر حساسية تجاه الصادات الحيوية مقارنة بالآخرى G- ؛ لأن الطبقة الخارجية المكونة لجدر الخلية الخارجية في البكتريا G- تحتوي على كمية كبيرة من عديد السكاريد الدهني lipopolysaccharide ، إضافة إلى اختلاف نفاذية الغشاء واختلاف نسبة الفوسفوليبيد مقارنة بالبكتريا G+ (Epand et al., 2016, 984)، فالبكتريا تحتوي على طبقة البروتين السكري peptidoglycan الذي يعتبر سهل الإختراق من قبل المضادات الحيوية مقارنة بطبقة عديد السكاريد الدهني صعبة الإختراق، كما تعزى هذه الفروق في الحساسية بين البكتريا-G و G+ إلى إختلاف في فاعلية انزيم  $\beta$ -lactamase المفرز منهما (Golan, 2011; 71). يُلاحظ من الجدولين 58 و 59 أن التركيز المثبط الأدنى MIC كان تقديره على أساس ملغ/مل بعد 24 ساعة من الاختبار، وأكدت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية (1%) بين مقدرة القطعات (Fractions) على تثبيط نمو البكتريا، إذ كانت القطعات المنقاة من عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بالأسيتون 70% والماء هي الأكثر كفاءة على تثبيط البكتريا. وجاءت القطعة الثانية المنقاة من هلام الترشيح لعديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب *Cladophora crispata* بوساطة الأسيتون 70% بأقل تركيز مثبط أدنى 5.8 ملغ/مل للبكتريا *Staphylococcus aureus* تلاها بالمرتبة الثانية بكتريا *Bacillus anthracis*. وكان أقل تركيز مثبط أدنى 23 ملغ/مل للبكتريا *Enterobacter aerogenes* تلاها في المرتبة الثانية بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* (الجدول 58)، كما أن النتائج نفسها في حال كون عديدات السكاريد استخلصت من طحلب *Cladophora fracta* (الجدول 59). وازداد قطر هالة التثبيط بازدياد تركيز عديد السكاريد الكبريتي، وذلك يتفق مع (Vishwakarma and Vavilala, 2019, 1014) كما هو مبين بالشكلان 32 و 33، كما لوحظ أن بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* هي الأشد مقاومة للتأثير التثبيطي لعديد السكاريد الكبريتي. أشارت دراسة سابقة إلى أن مجموعة السلفات هي التي منحت عديد السكاريد خواصه المضادة للبكتريا، ولا يقتصر تأثير عديدات السكاريد الكبريتية المستخلصة من الطحالب في تثبيط نمو البكتريا وحسب بل يتعداه إلى منع تكوين الرقاقات الحيوية Biofilms (Vishwakarma and Vavilala, 2019, 1014). إن آلية العمل المضادة للبكتريا لعديد السكاريد تجاه البكتريا تعزى إلى نوعين من الفرضيات، الفرضية الأولى تقوم على تصور أن عديد السكاريد الكبريتي يعمل على تحطيم جدر الخلية البكتيرية ومن ثم الوصول إلى مركز الخلية البكتيرية وهذا يؤدي إلى موتها (Liu et al., 2020, 400). في حين تذهب الفرضية الثانية إلى أن وجود البروتين السكري glycoprotein الذي يعمل كمستقبل لعديد السكاريد، إذ يرتبط عديد السكاريد بالمركبات الموجودة على جدر الخلية، الغشاء السيتوبلازمي، والحمض النووي البكتري DNA؛ ما يسبب زيادة في نفاذية الغشاء السيتوبلازمي، وتسرب البروتين و ربط DNA البكتري (Holand et al., 2005, 1770).



الشكل 3.2. النشاط المضاد للبكتريا (على أساس قياس قطر التثبيط) للقطرات المنقاة من هلام الترشيح

لعدد السكاريد الكبريتي، المستخلص من طحلب *Cladophora crispata*.



الشكل 3.3. النشاط المضاد للبكتريا (على أساس قياس قطر الثيبط) للقطقات المنقاة من هلام الترشيح لعدد السكريات الكبريتي المستخلص من طحلب *Cladophora fracta*.

الجدول 58. التركيز المثبط الأدنى ملغ/ مل (اختبار MIC) للقطرات المنقاة من هلام الترشيح لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب *Cladophora crispata*.

| المذيب        | Fractions No | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Bacillus anthracis</i> | <i>Enterobacter aerogenes</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
|---------------|--------------|------------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| الماء         | 1            | 10±1<br>E                    | 18±1<br>E                 | 28±1<br>E                     | 32±1<br>E                     |
|               | 2            | 6±1<br>F                     | 13±1<br>G                 | 25±1<br>G                     | 30±1<br>F                     |
| المتانول 70%  | 1            | 23±1<br>C                    | 29±1<br>D                 | 36±1<br>C                     | 42±1<br>C                     |
|               | 2            | 21±1<br>D                    | 31±1<br>C                 | 34±1<br>D                     | 39±1<br>D                     |
| الايثانول 70% | 1            | 27±1<br>A                    | 33±1<br>A                 | 46±1<br>A                     | 52±1<br>A                     |
|               | 2            | 25±1<br>B                    | 32±1<br>B                 | 42±1<br>B                     | 49±1<br>B                     |
| الأسيتون 70%  | 1            | 10±1<br>E                    | 17±1<br>F                 | 27±1<br>F                     | 30±1<br>F                     |
|               | 2            | 5.8±0.3<br>F                 | 12±1<br>H                 | 23±1<br>H                     | 29±1<br>G                     |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

الجدول 59. التركيز المثبط الأدنى ملغ/ مل (اختبار MIC) للقطرات المنقاة من هلام الترشيح لعدد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب *Cladophora fracta*.

| المصدر        | Fractions No | <i>Staphylococcus aureus</i> | <i>Bacillus anthracis</i> | <i>Enterobacter aerogenes</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
|---------------|--------------|------------------------------|---------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| الماء         | 1            | 16±1<br>D                    | 22±1<br>E                 | 38±1<br>D                     | 44±1<br>D                     |
|               | 2            | 14±1<br>E                    | 19±1<br>F                 | 27±1<br>G                     | 31±1<br>F                     |
| المتانول 70%  | 1            | 27±1<br>B                    | 32±1<br>C                 | 39±1<br>C                     | 46.2±0.6<br>B                 |
|               | 2            | 25±1<br>C                    | 31±1<br>D                 | 37.5±0.5<br>E                 | 45±1<br>C                     |
| الايثانول 70% | 1            | 29±1<br>A                    | 35±1<br>A                 | 41.2±0.6<br>A                 | 48.2±0.6<br>A                 |
|               | 2            | 27.5±0.5<br>B                | 34±1<br>B                 | 40.4±0.3<br>B                 | 47.7±0.8<br>A                 |
| الأسيتون 70%  | 1            | 14.7±0.8<br>E                | 19±1<br>F                 | 33±1<br>F                     | 36.5±0.5<br>E                 |
|               | 2            | 13±1<br>F                    | 16.7±0.8<br>G             | 27±1<br>G                     | 31±1<br>F                     |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة مختلفة في العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية 1%.

## 3 - 16 - تطبيق البسكوييت

## 3-16-1 - تأثير عديد السكاريد الكبريتي في الخواص الريولوجية

أمكن استعمال عوامل الأكسدة والإرجاع كمواد مضافة إلى دقيق القمح لدراسة تأثير الخواص الريولوجية للعجين (Liu *et al.*, 1996,156; Sandhu *et al.*, 2011,104)، ويُستعمل لهذا الغرض أجهزة الفارينوغراف الإكستنسوغراف، والمكسولاب (Song and Zheng,2007,132)، إذ استعمل عديد السكاريد الكبريتي المستخلص بوساطة الأسيتون 70% من طحلب *C.fracta* لهذا الغرض، كون هذا الطحلب هو الأكثر انتشاراً، ومحتواه من الكبريت مقبولاً ومماثلاً إلى المحتوى الكبريتي في بعض الخضار مثل الملفوف 260 ميكروغرام/ل (Joanne *et al.*, 2017,40).

الجدول 60. مؤشرات الفارينوغراف للعجين المدعم بنسب مختلفة من عديد السكاريد الكبريتي (SPs) المنقي

| المصدر         | نسبة إضافة SPs (%) | الإمتصاصية (%) | زمن تطور العجين (دقيقة) | زمن ثبات العجين (دقيقة) | درجة ضعف العجين (برابندر) | الرقم الفالوريمتري |
|----------------|--------------------|----------------|-------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------|
| شاهد           | 0                  | 61.5±0.2cd     | 3.9±0.36a               | 3.6±0.36a               | 80±2.5f                   | 52±1f              |
| القطعة الاولى  | 0.5                | 61.9±0.1cd     | 3.7±0.40a               | 3.3±0.15b               | 91.7±2.88e                | 53.4±0.57e         |
|                | 1                  | 62.4±0.17c     | 3.1±0.08b               | 3.0±0.00c               | 122.5±5b                  | 59±2c              |
|                | 1.5                | 64.8±0.2a      | 2.2±0.08c               | 2.1±0.08e               | 130±0.00a                 | 62±2a              |
| القطعة الثانية | 0.5                | 61.6±0.0cd     | 3.6±0.36a               | 3.15±0.15bc             | 91.7±2.88e                | 52.3±0.57f         |
|                | 1                  | 61.2±0.26d     | 3.1±0.08b               | 2.7±0.31d               | 110±0.00d                 | 56±1d              |
|                | 1.5                | 63.6±0.1b      | 2.25±0.22c              | 2.3±0.00e               | 120±2.5c                  | 60±1b              |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن العمود نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

لوحظ من خلال الجدول 60 أن إضافة عديد السكاريد الكبريتي أدى إلى زيادة في بعض مؤشرات الفارينوغراف مثل امتصاص الماء، ودرجة ضعف العجين والرقم الفالوريمتري، وترافقت هذه الزيادة بازدياد نسبة إضافة عديد السكاريد الكبريتي. وأدت إضافة عديد السكاريد الكبريتي إلى انخفاض في مؤشرات زمن تكون تطور العجين وزمن ثباته، إذ كان الدقيق من دون إضافة ذو زمن تطور وثبات أعلى 3.9 و 3.6 دقيقة على التوالي. كما يُلاحظ أن امتصاص الماء ازداد بزيادة نسبة إضافة عديد السكاريد؛ إذ إن زيادة نسبة إضافة عديد السكاريد تزيد من عدد الوحدات السكرية المضافة وكذلك من زيادة عدد زمر الهيدروكسيل، ويتفق ذلك مع نتائج الباحثين (Xhabiri *et al.*, 2014,66). ومن جهة أخرى فإن عديد السكاريد يشوبه البروتين المرتبط، فوجود عديد السكاريد المشوب بالبروتين إضافة إلى غلوتين القمح يتطلب كمية ماء إضافية حتى يصل العجين على خط 500 برابندر (Graca *et al.*,2018,470). وتؤدي عوامل الإرجاع إلى تخفيض زمن تطور العجين و ثباته.

(Joye et al., 2009,12). وبناءً على مؤشرات الفارينوغراف - زمن التطور وزمن الثبات - يُلاحظ أن إضافة عديد السكاريد الكبريتي بنسبة 1.5% جعل دقيق القمح يقع ضمن التصنيف متوسط القوة (Williams,1997).

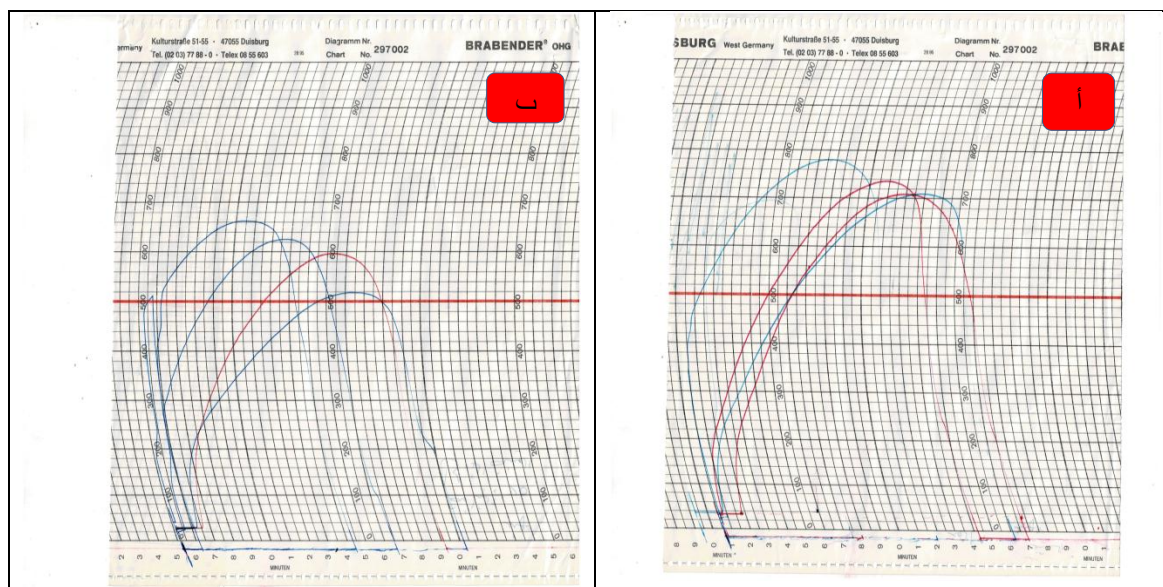
أدت إضافة عديد السكاريد الكبريتي إلى تغير في تركيب العجين في أثناء عملية الخلط، وتغير طبيعة توزيع الماء ضمن العجين، وهذا أدى إلى زيادة امتصاص الماء، وانخفاض زمن تطور العجين وثباته وإضعافه، وجاءت هذه النتائج مشابهة لما وجدته Guo وآخرون (2021,1365) عند إضافته الغلوتاثيونين.

الجدول 61. مؤشرات الإكستنسوغراف للعجين المدعم بنسب مختلفة من عديد السكاريد الكبريتي (SPs) المنقى

| المصدر            | نسبة<br>إضافة<br>SPs | مقاومة شد<br>(برابندر) | المقاومة العظمى<br>للشد<br>(برابندر) | المرونة<br>(مم) | المطاطية    | القدرة<br>(سم <sup>2</sup> ) |
|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------------------|-----------------|-------------|------------------------------|
| الشاهد            | 0                    | 231.66±1.44b           | 350.66±3.81a                         | 150±1c          | 2.31±0.010a | 105±3a                       |
| القطعة<br>الاولى  | 0.5                  | 230.83±2.88b           | 240±5.0b                             | 131.33±0.57g    | 1.82±0.031b | 96±2.3b                      |
|                   | 1                    | 215±2.5d               | 231.66±2.88c                         | 142.33±1.50e    | 1.62±0.006b | 81±2.27d                     |
|                   | 1.5                  | 182.5±5e               | 190±7.5e                             | 158 ±2b         | 1.20±0.032c | 50.6±2.25f                   |
| القطعة<br>الثانية | 0.5                  | 232.5±0.00a            | 240±2.5b                             | 136.33±0.57f    | 1.67±0.012b | 91±2c                        |
|                   | 1                    | 216.66±1.44c           | 230.00±5d                            | 145±0.00d       | 1.58±0.034b | 77±2e                        |
|                   | 1.5                  | 174.66±2.88f           | 190.00±2.5e                          | 160±1a          | 1.18±0.008c | 43.5±1.5g                    |

a,b,c,d: إن وجود أحرف صغيرة متشابهة ضمن العمود نفسه تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند 1%.

يُلاحظ من الجدول 61 وجود تأثير واضح لإضافة عديد السكاريد الكبريتي في مؤشرات الإكستنسوغراف إذ ترافق ازدياد المرونة بازدياد تركيز عديد السكاريد الكبريتي المضاف، وهذا ما يشير إلى ازدياد ضعف العجين، إذ وجد أعلى قيمة للمرونة 160 وحدة برابندر عند نسبة الإضافة 1.5% للقطعة الثانية، وأدت إضافة عديد السكاريد الكبريتي إلى انخفاض في بقية مؤشرات الإكستنسوغراف. كما يُلاحظ أن أعلى قيمة للمقاومة العظمى للشد 350.66 برابندر في عينات الشاهد، إذ إنه يُعد من الدقيق متوسط القوة، وقد أدت عملية الإضافة إلى تراجع تصنيف الدقيق إلى مرتبة الدقيق الضعيف بحسب ويلميز (Williams,1997)، وتعرف القدرة بأنها المساحة تحت المنحنى وتعطي فكرة عن قوة العجين الشكل، إذ تُعد المساحة من 80 حتى 120 سم<sup>2</sup> مؤشراً لدقيق متوسط القوة، أما المساحة أقل من 80 سم<sup>2</sup> فتشير إلى الدقيق الضعيف (Parate et al.,2016,41).  
تقترح النتائج المتحصل عليها أن إضافة عديد السكاريد الكبريتي أدى إلى انخفاض في قيم المطاطية وزيادة لزوجة العجين مقارنة بالشاهد كما هو موضح في الشكل 34، إذ إن إضافة عديد السكاريد الكبريتي أدت إلى ضعف شبكة الغلوتين وضعف العجين، ويتفق ذلك مع دراسة سابقة، ويمكن تعليل ذلك بسبب تفاعلات الغلوتين وإستر السلفات في عديد السكاريد الكبريتي التي أدت إلى تعديل الرابطة من النمط S-S في الغلوتين إلى النمط SH-SS (Dong and Hosene, 1995,60)، فقد عملت هذه الإضافة على زيادة مرونة العجين وأصبح أكثر ملائمة لصناعة البسكويت (Kumar et al.,2013,77).



الشكل 34. تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي في مؤشرات الإكستنسوغراف: أ: دقيق من دون إضافة، ب: دقيق مضاف إليه عديد السكاريد الكبريتي.

### 3 - 16 - 2 - تغير بعض القيم الغذائية للبسكويث المدعم بعديد السكاريد الكبريتي

أخبر الصالح وآخرون (2017,56) عن إمكانية توجيه بعض أصناف القمح القاسي مثل شام 7 لصناعة الحلويات والتي تكون ذات قيمة قدرة منخفضة. ويبين الجدول 62 التركيب الكيميائي لبسكويث المصنع، فقد تطابقت القيم المدروسة مع دراسة سابقة وذلك في حالة عينة الشاهد (محمد و طلي، 2018، 206)، وأدى تدعيم البسكويث بعديد السكاريد الكبريتي بنسب مختلفة 0.5، 1، 1.5% إلى دقيق القمح لارتفاع طفيف في محتواه من السكريات الكلية والبروتين إلا أن هذا الارتفاع غير دال إحصائياً (1%) كما هو مبين في الجدول 62. كما لوحظ ارتفاع قيم نسبة الرطوبة بارتفاع نسبة عديد السكاريد الكبريتي المضاف إذ وجدت أعلى قيمة للرطوبة (4%) في عينة البسكويث المدعم بعديد السكاريد الكبريتي بنسبة 1.5 %، ويعود ذلك إلى زيادة عدد المجاميع القطبية في عديد السكاريد الكبريتي المضاف، وقد ترافقت تلك الزيادات في تغير قيمة رقم الحموضة مقارنة بعينة الشاهد.

الجدول 62. المؤشرات الغذائية للبسكويث المدعم بعديد السكاريد الكبريتي.

| المكونات<br>المعاملة | السكريات الكلية % | البروتين %     | رطوبة %        | pH             |
|----------------------|-------------------|----------------|----------------|----------------|
| الشاهد               | 80.78±0.003<br>A  | 9.12±0.23<br>A | 2.4±0.22<br>C  | 7.03±0.04<br>D |
| 0.5%                 | 80.90±0.002<br>A  | 9.12±0.20<br>A | 2.9±0.25<br>BC | 7.56±0.06<br>C |
| 1%                   | 81.15±0.001<br>A  | 9.31±0.25<br>A | 3.5±0.28<br>AB | 8.04±0.07<br>B |
| 1.5%                 | 81.52±0.003<br>A  | 9.69±0.20<br>A | 4±0.28<br>A    | 8.21±0.04<br>A |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

مع الإشارة إلى ثبات قيم المكونات السابقة خلال مدة مراقبة البسكويت (30 يوماً). كما وجب التنويه إلى خلو عينات البسكويت من أي نموات ميكروبية، إذ جرى التحري عن وجود البكتريا، الخمائر والفطريات في عينات البسكويت طوال مدة الدراسة وكانت النتائج سلبية.

### 3 - 16 - 3 - التغيرات اللونية للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي

أدى تدعيم البسكويت بعديد السكاريد الكبريتي إلى خفض قيمة L ورفع قيمة (a و b) كما هو مبين في الجدول 63، أي إن ارتفاع نسبة عديد السكاريد الكبريتي المضافة أدى إلى جعل البسكويت أكثر قتامة مقارنة بعينة الشاهد (على الرغم من عدم وجود فروق معنوية بين معاملة الشاهد والمعاملة التي استعمل معها عديد سكاريد كبريتي مضاف 0.5 %)، إذ وجدت أقل قيمة للمؤشر L \* 74.6 وأعلى قيم للمؤشران \*a ، \*b 0.56 و 20.9 في المعاملة التي استعمل معها عديد سكاريد 1.5 %، ويعود ذلك إلى حصول تفاعل ميلارد خلال عملية خبز البسكويت ويتفق ذلك مع نتائج الباحث حسين وزملائه (Hussein et al., 2010, 226).

الجدول 63. التغيرات اللونية للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي.

| المؤشر<br>المعاملة | *L             | *a              | *b              |
|--------------------|----------------|-----------------|-----------------|
| الشاهد             | 79.0±0.25<br>A | 0.46±0.005<br>C | 18.3±0.13<br>C  |
| %0.5               | 78.9±0.20<br>A | 0.46±0.01<br>C  | 18.12±0.18<br>C |
| %1                 | 76.4±0.12<br>B | 0.52±0.55<br>B  | 19.3±0.21<br>B  |
| %1.5               | 74.6±0.10<br>C | 0.56±0.70<br>A  | 20.9±0.26<br>A  |

A,B,C,D: إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في العمود نفسه يشير إلى عدم وجود فروق معنوية 1%.

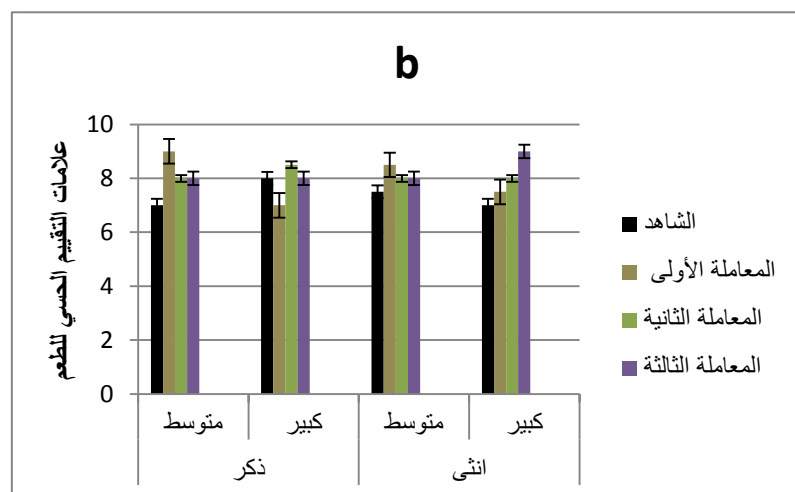
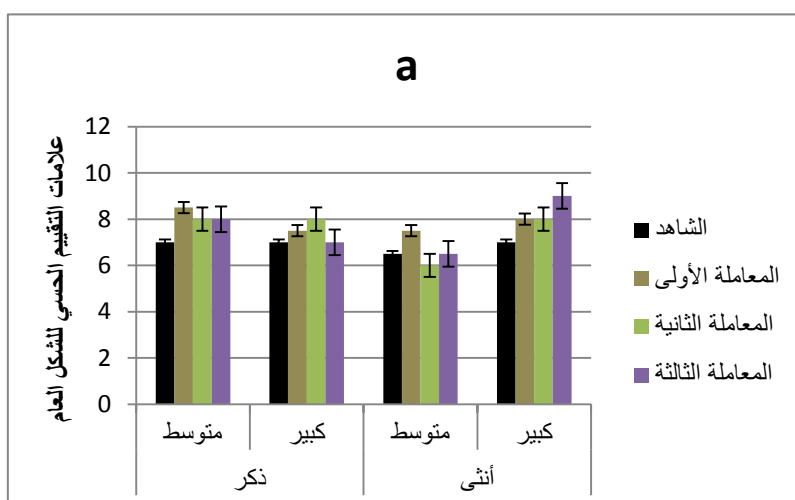
\*L : درجة اللّمعان (lightness/darkness)، \*a : درجة اللون الأحمر (redness/greenness)، \*b : درجة اللون الأصفر (yellowness/blueness).

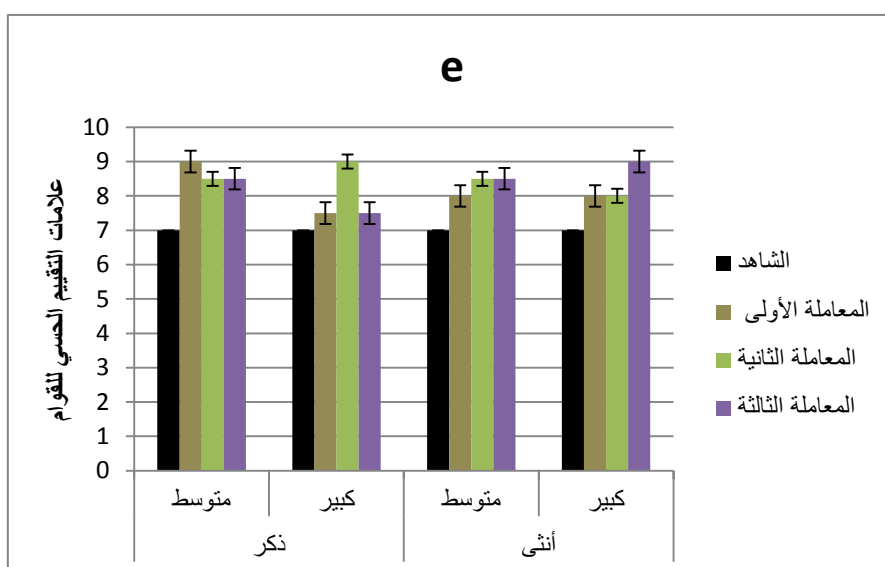
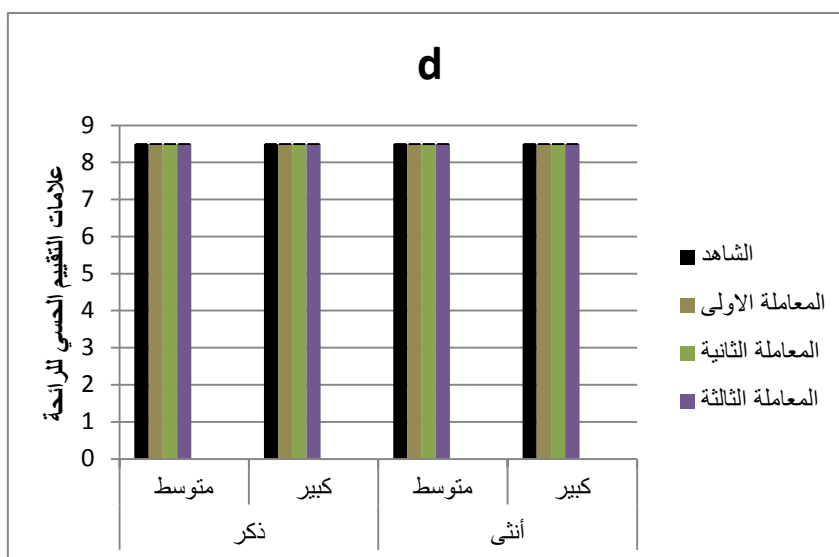
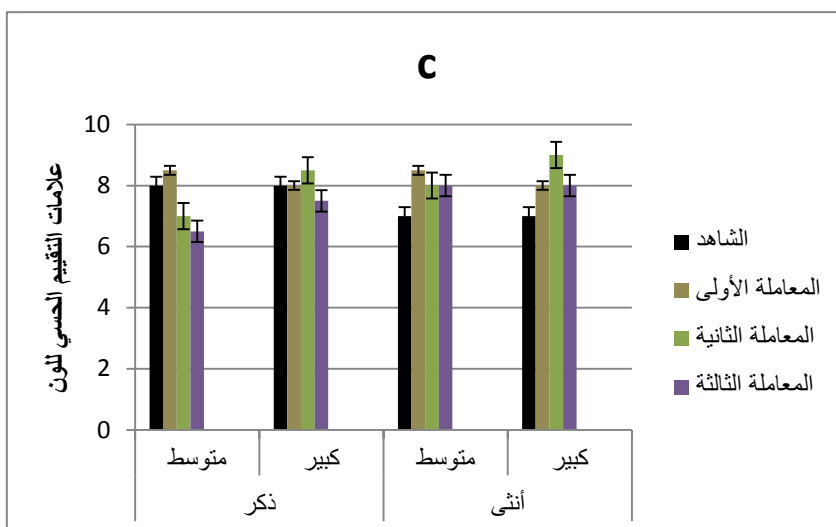
### 3 - 16 - 4 - نتائج التقييم الحسي للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي

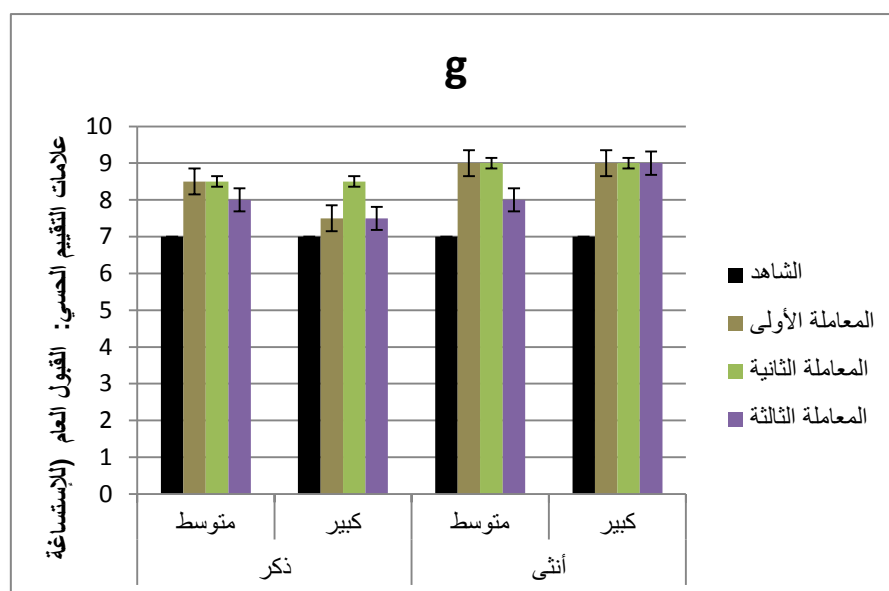
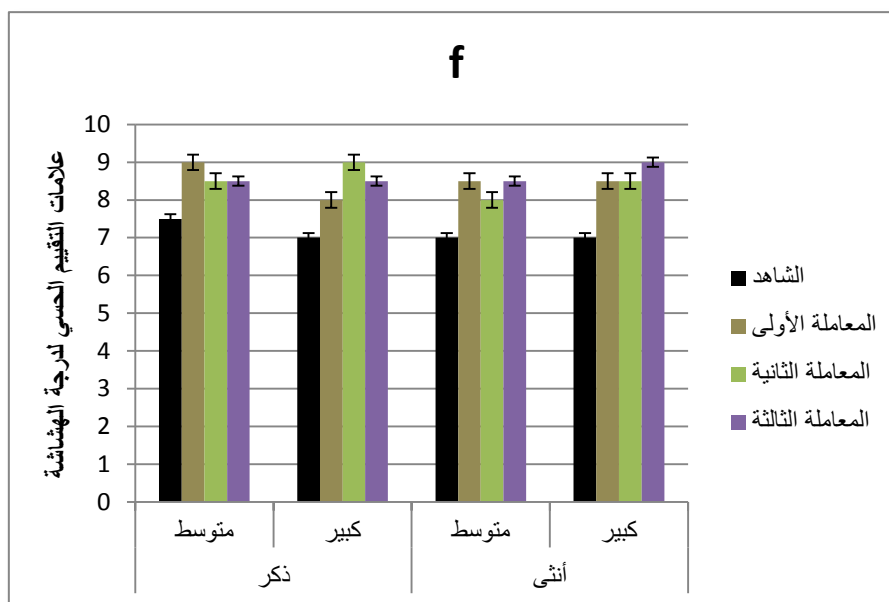
يتضح من خلال الشكل 35 وجود فروق بسيطة بين العينات التجريبية من حيث اللون. عموماً؛ يمكن القول إن عينة البسكويت التي استعمل معها عديد السكاريد الكبريتي بنسبة 1.5 % هي الأكثر إسمراً إلا أنها ضمن النطاق الطبيعي.



الشكل 3.5. البسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبرى بنسب مختلفة







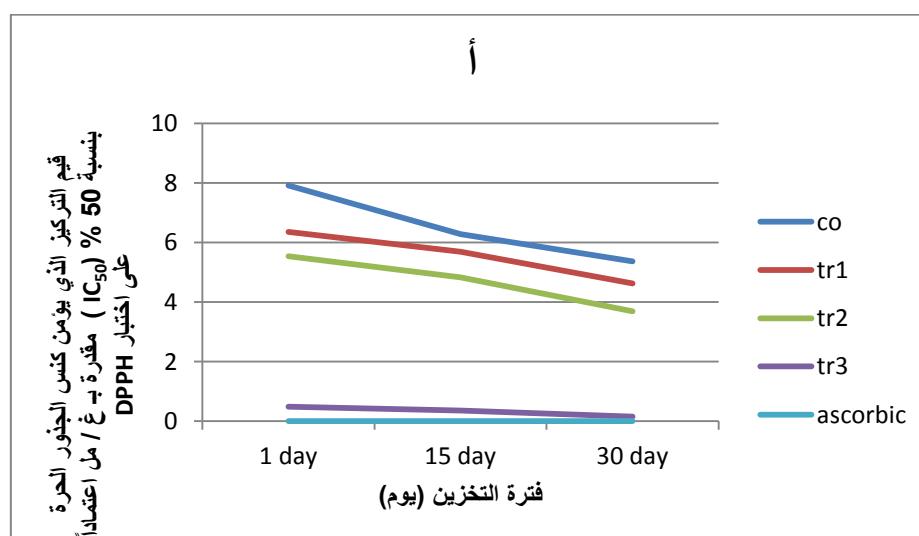
الشكل 36. التقييم الحسي للبسكويت المدعم بعديد السكريات الكبرى بنسب مختلفة، a نتائج التقييم الحسي للشكل العام، b نتائج التقييم الحسي للون، c نتائج التقييم الحسي للطعم، d نتائج التقييم الحسي للرائحة، e نتائج التقييم الحسي للقوام، f نتائج التقييم الحسي للهشاشة، g نتائج التقييم الحسي للقبول العام (الاستساغة).

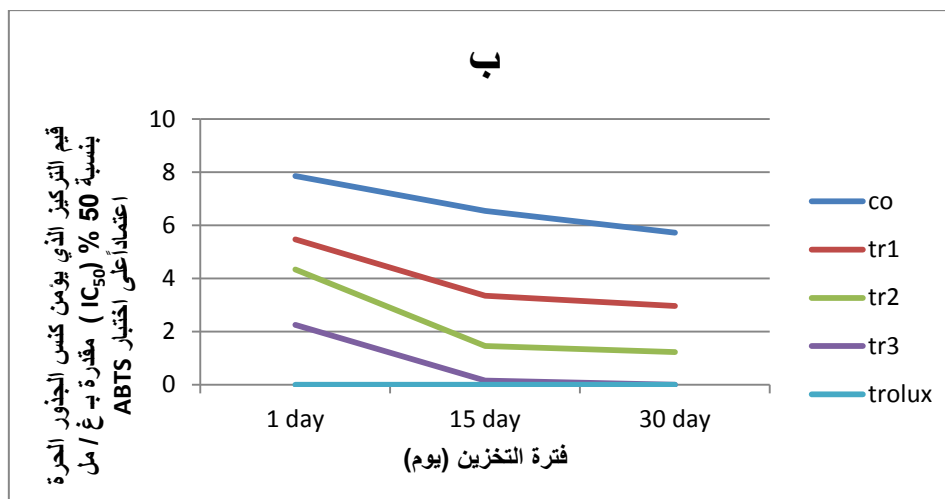
من خلال الشكل 36 يُلاحظ وجود تباين في آراء المحكمين من حيث تقييم بعض الخواص الحسية للبسكويت، والاختلاف في الآراء حول اللون والطعم من الأمور المتوقعة ويتفق ذلك مع San Jose وآخرون (2018,164)، إذ يفضل المحكمون الشباب المعاملة الأولى ذات نسبة الإضافة المنخفضة ويتفق ذلك مع (San Jose et al., 2018,164)، ويفضل المحكمون الكبار المعاملتين الثانية والثالثة ذات اللون الغامق نوعاً ما ويتفق ذلك مع (Kaur et al., 2015,628).

كما يُلاحظ من الشكل 36 أن المحكم الذي اختار معاملة ما على أنها الأحسن قوياً قام بتفضيل المعاملة نفسها عند تقييم الهشاشة ويتفق ذلك مع (Al-Marazeeq and Angor, 2017, 192)، وعلى النقيض من ذلك بالنسبة للرائحة، إذ لم يلاحظ التباين بين المعاملات ويتفق ذلك مع دراسات أخرى (ksuz and Karakas, 2016, 5)، كما اتفق جميع المحكمين على أن المعاملة الثانية هي من ضمن المعاملات الأفضل في نسبة القبول العام.

### 3 - 16 - 5- نتائج الفاعلية المضادة للتأكسد للبسكويات المدعم بعديد السكاريد الكبريتي.

يُلاحظ من الشكل 37 وجود تباين بين المعاملات المختبرة في قيم التركيز الذي يؤمن كنس الجذور الحرة بنسبة 50% ( $IC_{50}$ ) في كلا الاختبارين، إذ كان لمعاملة الشاهد أعلى قيم ( $IC_{50}$ ) طوال فترة الخزن وتباينت قيم الـ ( $IC_{50}$ ) ضمن المعاملات التجريبية 0.5، 1، 1.5%، ويوضح الشكل 52 أن أقل قيمة ( $IC_{50}$ ) كانت في المعاملة التي استعمل معها 1.5% عديد سكاريد كبريتي إذ بلغت 0.49 غ/غ اعتماداً على اختبار  $DPPH^*$  و 2.26 غ/غ اعتماداً على اختبار  $ABTS^{++}$ ، وازدادت المقدرة على كنس الجذور الحرة بزيادة تركيز عديد السكاريد الكبريتي ويتفق ذلك مع دراسات سابقة (Bhuyar et al., 2010, 102 ; Pawlak et al., 2021, 33)، مع ملاحظة أن الفاعلية المضادة للتأكسد في الشاهد الإيجابي هي الأقوى بكثير بكلتا الطريقتين ( $IC_{50}$  لحمض الاسكوريك 0.26 ملغ/غ،  $IC_{50}$  الترولوكس 0.92 ملغ/غ).





الشكل 37. الفاعلية المضادة للتأكسد للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي المنقى: قيم التركيز الذي يؤمن كنس الجذور الحرة بنسبة 50% ( $IC_{50}$ ): أ - اعتماداً على اختبار 'DPPH'، ب - اعتماداً على اختبار  $ABTS^{++}$

تتصف مجموعة السلفهدريل بدور مانح لذرة الهيدروجين، وهذا ما جعل عديد السكاريد الكبريتي (وضمناً القطفات الناتجة عن تنقيته) يكتسب خواصاً مضادة للتأكسد (Imjongjairaka *et al.*, 2016, 525)، إضافة إلى أن الحموض السكرية Uranic acide ذات خواص مضادة للتأكسد (Chen *et al.*, 2004, 3334). تمنع مضادات التأكسد عموماً تشكل البيروكسيد الدهني خلال فترة الخزن ومن ثم تؤخر من حصول التزنخ (Hussein *et al.*, 2010, 226)، كما يُلاحظ انخفاض قيم التركيز الذي يؤمن كنس الجذور الحرة بنسبة 50% بالمئة ( $IC_{50}$ ) مع مرور فترة الخزن في جميع المعاملات ولكلا الاختبارين، ويعزى ذلك إلى بطء نفاذ عديد السكاريد الكبريتي ضمن طبقات البسكويت ووصوله إلى المحتوى الدهني بالكامل.

## الفصل الرابع

### الخاتمة

## الاستنتاجات Conclusions

- 1- يُعد طحلب الكلادوفورا متأقلم مع البيئة السورية وعلى نحو خاص نوعي الطحالب *C. crispata* و *C. fracta*، وهي سهلة التشخيص من الناحية المورفولوجية.
- 2- يمكن تنمية طحلب *Cladophora* حسب الغرض منه، فمن أجل زيادة المحتوى البروتيني ينصح بزرعها ضمن أوساط مرتفعة المحتوى النتروجيني (مثل وسط الصرف الصحي المعقم)، وفي حال الرغبة برفع محتواها الدهني يمكن اللجوء إلى زرعها في أوساط تحتوي على عنصر الكوبالت (مثل وسط مستخلص التربة)، وتزرع في وسط BBM من أجل المحافظة على محتواها الكربوهيدراتي.
- 3- يُعد إكثار طحالب الكلادوفورا في الأحواض المفتوحة طريقة سهلة وقليلة التكلفة. وفي حال الرغبة في مراكمة المحتوى الكربوهيدراتي ضمن الكتلة الحيوية للطحلب، يتم إكثار الطحالب في ظروف الإجهاد الصيفي، والأوساط منخفضة الفوسفات.
- 4- تبدو طريقة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية مفيدة جداً لاستخلاص عديد السكاريد الكبريتي من هذه الطحالب، وقد أثرت مذيبات الاستخلاص، زمن الاستخلاص، درجة حرارة الاستخلاص ونسبة المذيب إلى الطحلب الجاف في المردود من عديدات السكاريد ومكوناته، وتميز الأسيتون 70% والماء بإعطاء مردود عال من عديد السكاريد الكبريتي، ولدرجة حرارة الاستخلاص دور مهم بسبب تأثيرها في المردود ونسب مكوناته، كما أدى استعمال نسب مرتفعة للمذيب (الماء) إلى الطحلب الجاف مثل 40 : 1 أمل / غ إلى انخفاض المردود بسبب طول المسافة التي يقطعها المذيب إلى خلايا الطحلب. كما أن طول زمن الاستخلاص تعلق ببقية المؤشرات السابقة.
- 5- كانت منهجية سطح الاستجابة مناسبة جداً للتنبؤ بالمردود.
- 6- تبين أن عديد السكاريد المستخلص هو من النوع غير المتجانس في كلا نوعي الطحالب، إلا أن السكريات البسيطة مثل الرامنوز والكزيلوز هي الأساسية في تركيب هذا البلمر. إضافة إلى أنهما يتكونان من وحدات سكرية وبروتين وحموض يورانية ومجموعة السلفهدريل اعتماداً على طيف الأشعة تحت الحمراء، ويمكن الإعتماد على هذه التقنية لوحدها في الكشف عن المجاميع الفعالة في هذا البلمر.
- 7- نجحت تنقية هذا البلمر باستعمال هلام الترشيح Sephadex Gel G-100، وأعطت نوعين من القطفات، وكان لكلا القطفتين أنماط السكريات البسيطة نفسها والأفضل إجراء عملية تنقية ثانية لعديد السكاريد الخام باستعمال كروماتوغرافيا التبادل الشاردي بهدف الحصول على سكر عالي النقاوة وقليل المحتوى البروتيني.
- 8- يتصف السكر المنقى بخواص ذات فاعلية حيوية بناءً على خواصه البنيوية مثل احتوائه على مركبات السلفهدريل والحموض السكرية Uranic acide، وزمرة الهيدروكسيل الخاصة بالوحدات السكرية، إذ إن هذه الزمر الوظيفية تتحد معاً لإكساب هذا البلمر صفاته المضادة للتأكسد.
- 9- يمكن الاعتماد على قيمة درجة الانصهار فقط للحكم على درجة نقاوة وتحديد أعلى وزن جزيئي لعديدات السكاريد الكبريتية.

10- تضيفي فاعلية عديد السكاريد المضادة للبكتريا ميزة فريدة من نوعها تؤهله إلى الدخول في مجال الصناعات الغذائية والدوائية.

11- عملت إضافة عديد السكاريد الكبريتي إلى دقيق القمح على زيادة نسب الإمتصاصية، درجة ضعف العجين و الرقم الفالوريمتري اعتماداً على مؤشرات الفارينوغراف، وأظهرت مؤشرات الاكستنسوغراف زيادة نسبة المرونة فقط، وبالتالي سلك عديد السكاريد الكبريتي سلوك العوامل المرجعة.

12- تقوم عوامل الإرجاع بالتأثير في الخواص الريولوجية للعجين وفي بنية الغلوتين في أثناء عملية الخلط والتخمير والمعاملة الحرارية، وإن آلية عملها تكون على الشكل المعاكس لعوامل الأكسدة.

13- كان الارتفاع الملحوظ في المرونة نتيجة التفاعل بين عديد السكاريد الكبريتي - غلوتين والذي جرى على النحو الآتي: عند تحضير العجين يمتص الغلوتين الماء المضاف، كما أن الألفة للماء التي يتميز بها عديد السكاريد الكبريتي عملت على زيادة امتصاص الماء؛ وهذا أدى إلى التنافس على امتصاص الماء بين الغلوتين وعديد السكاريد الكبريتي في أثناء فترة تطور العجين. وبالنتيجة فإن ذلك سبب ضعف الشبكة الغلوتينية، وكذلك الحال للتأثير المرجع لعديد السكاريد الكبريتي نتيجة لحصول تغير في الرابطة من ثنائي الكبريتيد إلى رابطة سلفاهدريل في الجلوتينين الذي يؤدي إلى إضعاف العجين عن طريق انخفاض في مطاطيتها وزيادة في مرونته نتيجة لتقليل الارتباط بين جزيئات البروتين (إذ تقوم بتخفيض الوزن الجزيئي في الجلوتينين) و لزيادة مرونة الروابط بين جزيئات الغلوتين. إن إضافة عديد السكاريد الكبريتي المستخلص من طحلب *Cladophora frakta* إلى البسكويت كانت عملية ناجحة ولاقت قبولاً عاماً من الناحية الحسية وتوقفت على عينة الشاهد.

14- عملت إضافة عديد السكاريد الكبريتي على جعل هذا المنتج مؤهلاً لكي يصنف ضمن الأغذية الوظيفية لازدياد المقدرة على كنس الجذور الحرة في هذا المنتج مقارنة بعينة الشاهد، لكون هذا البلمر يتكون من وحدات سكرية، مجموعة السلفات و حموض يورانية.

### التوصيات Recommendations

1. العمل على إكثار طحالب الكلادوفورا باستعمال المفاعلات الحيوية الضوئية أو المخمرات.
2. إكثار طحلب الكلادوفورا بظروف التجويع من النتروجين.
3. استعمال مؤشرات استخلاص مختلفة مثل التحري عن تأثير نوع تردد الأمواج فوق الصوتية، مذبذبات أخرى مثل ثنائي ميثيل السلفوكسيد DMSO
4. استخلاص عديد السكاريد الكبريتي بطريقة الأمواج الصغيرة (الميكروويف).
5. التحري عن فاعلية عديد السكاريد المستخلص ضد الفيروسات والفطريات.
6. إضافة عديد السكاريد الكبريتي إلى العصائر.

## المراجع العربية References in Arabic

1. أبو المجد، عبد العليم سليمان.(2011). التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء. الطبعة الأولى، القاهرة، مصر، الأكاديمية الحديثة للكتاب الجامعي، ص:326.
2. الأسدي، رائد، والعوادي، زيد .(2012). قابلية الطحلبين *Spirogyra majuscula* و *Cladophora fracta* على النمو بتراكيز مختلفة لمياه الصرف الصحي وإنتاج الإيثانول الحيوي . أطروحة ماجستير. قسم علوم الحياة النباتية، كلية التربية، جامعة القادسية، الديوانية، العراق، ص: 130 .
3. برهوم، لبنى، خلاصي، حسام الدين، وعبد العزيز، محمد.(2022). دراسة العلاقة بين الإنتاجية وبعض مؤشرات تحمل الجفاف الكمية لعدة طرز من القمح الطري (*Triticum aestivum* L.) تحت ظروف البيت المحمي. المجلة السورية للبحوث الزراعية، أبحاث المؤتمر الثالث عشر GCSAR1، 404 – 417.
4. جاسم، جعفر محمد، أحمد، و طارش، جبار.(2010). دراسة القيمة الغذائية والتركيب الكيميائي والإنتاجية لطحلب *Cladophora crispata* ، مجلة ميسان للدراسات الأكاديمية ،المجلد 8 ، العدد 16، ص: 254 – 261 .
5. حاج حسين، حسام، بدا، مصطفى، فريد علي، عيسى، زغيتي، إبراهيم، وكروج، عبير .(2017). دراسة هيدرولوجية ورصد بعض مؤشرات التلوث في حوض النهر الكبير الشمالي. المجلة السورية للبحوث الزراعية. المجلد 4، العدد 3، ص: 80 – 95، دمشق، سورية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية.
6. حميد، مريم فوزي، السعد، حامد طالب، وعذبي، أحمد محسن.(2014). قابلية الطحلب الأخضر *Cladophora crispata* على مراكمة المركبات الهيدروكربونية وإنتاجها. مجلة علوم جامعة ذي قار. المجلد 5، العدد 1، ص: 16 – 23.
7. حميدان، عدنان عباس، مخول، مطانيوس، جاعوني، فريد، و غا، عمار ناصر .(2006). الإحصاء التطبيقي، الجزء النظري، منشورات جامعة دمشق-كلية الاقتصاد، ص: 565.
8. الخضر، أريج، الزعبي، محمد منهل، الربيع، سامر، حمود، أبابيل، الجراد، رشا، ونعمة، غادة.(2022). استجابة صنفين من اصناف القمح (طري وقاسي) لمستويات مختلفة من الأسمدة الآزوتية في ظروف محافظة ريف دمشق. المجلة السورية للبحوث الزراعية. العدد 9، المجلد 6، ص: 260 – 271.
9. ديب، حيان.(2018). تحليل البيانات. منشورات الجامعة الافتراضية السورية. ص: 140.
10. السراني، عبد العزيز بن قبلان، الترك، إدريس بن منير، والحسيني، محمد محمد.(2000). الطحالب. مكتبة أبوعظمة، المملكة العربية السعودية، المدينة المنورة. ص: 314.

11. سلمان، ضحى داود، والعبادي، ايناس مظفر. (2009). تقويم بعض الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية للكيوتوسان المحضر بمعاملة قلووية من قشور الروبيان. مجلة العلوم الزراعية، المجلد 40 ، العدد 4، ص: 63-75.
12. الشوا،خلود، سمعان، جهاد، والحاج علي، أنور. (2012). تأثير العوامل الفيزيوكيميائية والريولوجية لدقيق القمح في جودة النودلز. رسالة ماجستير، جامعة دمشق كلية الزراعة. ص: 99 .
13. الصالح، عبود، ومحمد، عبد الرحمن محمد. (2020). الكيمياء الحيوية، الجزء النظري والعملي. منشورات جامعة دمشق، كلية الزراعة. ص: 257.
14. الصالح، عبود، الجوري، ابراهيم، والحمادة، وصال. (2017). دراسة بعض الخصائص الريولوجية لأصناف من القمح الصلب *Triticum durum* Desf. السوري. المجلة السورية للبحوث الزراعية. المجلد (1)، ص: 51-58.
15. العبادي، ايناس، والجبوري، أحمد. (2013). تقويم الخصائص الفيزيوكيميائية والوظيفية لهلام بذور الكتان. مجلة العلوم الزراعية العراقية. المجلد 44 ، العدد 6 . ص: 745-753 .
16. العبد الواحد، محمد باقر، كاسو، علا، الحنيش، ثامر، تدبير، زينب، وشريدة، خالد. (2022). التفاعل الوراثي البيئي وثباتية الغلة لأصناف من القمح القاسي تحت ظروف منطقة الاستقرار الثانية في سورية. المجلة السورية للبحوث الزراعية. العدد 10، المجلد 1، ص: 86-100.
17. عرموش، أحمد، وسمعان، جهاد. (2015). تأثير محسنات الدقيق في الخصائص الريولوجية والتصنيعية لغلوتين دقيق القمح الطري السوري. رسالة ماجستير، جامعة دمشق كلية الزراعة، ص: 117 .
18. عكو، حسام؛ نداف، محمد، وعلي نظام، عدنان أحمد. (2017). تأثير بعض ظروف النمو على كمية الكربوهيدرات ونوعيتها في *Chlorella vulgaris* طحلب المعزول من المياه العذبة في جنوب سورية، مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية-سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد 39 ، العدد 1 ص: 91-105 .
19. علي نظام، عدنان أحمد . ( 2009 ). العوامل النباتية ، القسم النظري ، منشورات جامعة دمشق - كلية العلوم -قسم الحياة النباتية . ص: 245.
20. علي نظام، عدنان أحمد (22- 23 نوفمبر 2011). الطحالب الدقيقة معاملة معالجة المخلفات ومصدر الطاقة في المستقبل. الندوة العلمية: طاقة الكتلة الحيوية في سورية: الواقع والآفاق المستقبلية. الهيئة العليا للبحث العلمي - الشبكة الوطنية لتقانات المتجددة بالتعاون مع كلية الهندسة الميكانيكية والكهربائية، جامعة دمشق، سورية. ص: 1-17.
21. عوض، عادل، حمود، نديم، وشاهين، هيثم. (2000). دراسة تطور أجناس الطحالب في بحيرات الأكسدة والمعالجة البيولوجية لمياه الصرف الصحي في مدينة السلمية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، المجلد 2، العدد 16. ص: 57-93 .

22. كف الغزال، رامي، الفارس، عباس والصالح، عبود. (1992). إنتاج وتكنولوجيا محاصيل الحبوب الجزء النظري، منشورات جامعة حلب، كلية الزراعة، ص: 198
23. كورجك، فردوس مصطفى، وعلي نظام، عدنان أحمد. (2018). التنوع الحيوي للنباتات المائية في نهر الحصين وتأثير مستخلصاتها في بعض أنواع الطحالب الدقيقة. أطروحة ماجستير، قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق. ص: 1-88.
24. المجموعة الإحصائية الزراعية السنوية. (2018). منشورات وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، الجمهورية العربية السورية.
25. محاسنة، حسين، وصالح، جمال. (2022). تقييم أهمية تطبيق نظام الزراعة الحافظة في تحسين إنتاجية محصول القمح وصفات التربة الخصوبية. المجلة السورية للبحوث الزراعية، أبحاث المؤتمر الـ 13 للبحوث العلمية الزراعية، ص: 65-78.
26. محمد، سيراؤوس. (2020). استعمال الطحالب والجراثيم الزرقاء لتقييم حالة التلوث في بحيرة قطينة. مجلة جامعة دمشق للعلوم الأساسية، المجلد 36 (1)، ص: 67-94.
27. محمد، محمد، وطلي، روعة. (2018). تأثير تدعيم دقيق القمح بدقيق الترمس الحلو في بعض الخصائص الكيميائية والفيزيائية للبسكوت. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، المجلد 34 (2)، ص: 197-214.
28. المنظمة العربية للتنمية الزراعية. (2018). الكتاب السنوي للإحصائيات الزراعية العربية، السودان، الخرطوم. ص: 234.
29. النصراوي، سمير. (2011). تأثير درجة الحرارة على بعض الخواص البصرية والكهربائية لبو ليمر زانثان سيليلوز. مجلة جامعة بابل للعلوم الصرفة والتطبيقية. المجلد 19، العدد 2، ص: 269-280.
30. هندي، زهراء عباس، والربيعي، ظاهر عبد الزهر. (2013). الموارد المائية في الجمهورية العربية السورية، الواقع والمستقبل. مجلة أبحاث البصرة (العلوم الإنسانية). المجلد 38، العدد 1، ص: 180-201.
31. هيئة الموصفات والمقاييس العربية السورية. (2007). المواصفة القياسية السورية رقم 45 لمياه الشرب. وزارة الصناعة، دمشق، سورية، ص: 1-22.

## المراجع الإنكليزية References

1. AACC. (2000). American association of cereal chemists. Method 45-21, 54-10A, Saint Paul, USA. pp 26, 41, 66.
2. Abbood, H.Y and Naser, A.W. (2014). Effect of irrigation water quality and nitrogen fertilization on barley growth and some nutrient elements availability. Al Furat Journal for Agriculture Sciences, vol 6 (4):475-491.

3. Abd El Baky, H. H., El Baroty, G. S., and Ibrahem, E. A .(2015). Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from Spirulina and Spirulina biomass. **Nutricion Hospitalaria**,vol 32(1):231-241.
4. Abd - El Hafez, M.S.M., El-Komy, R.G.,Saleh, H., and Aboul-Ela H.M.(2020).Extracts of the green algae *Ulva prolifera* possess antioxidant and antibacterial activities *in vitro*. **Egyptian Journal of Aquatic Biology and Fisheries**, vol 24(4): 267 – 280.
- 5.Abedi, E., and Pourmohammadi K.(2020). The effect of redox agents on conformation and structure characterization of gluten protein: An extensive review. **Food Science Nutrtrtion**,vol 8:6301–6319.
- 6.Adhikari, U., Mateu, C. G., Chattopadhyay, K., Pujol, C., and Damonte, E. B.(2006). Bimalendu Ray.Structure and antiviral activity of sulfated fucans from *Stoechospermum marginatum*. **Phytochemistry journal**, vol 67, 2474–2482.
- 7.Aguilar-Briseno, J. A., Cruz-Suarez, L. E., Sassi, J. F., Ricque-Marie, D., Zapata-Benavides, P., Mendoza-Gamboa, E., and Trejo-Avila, L. M. (2015). Sulphated polysaccharides from *Ulva clathrata* and *Cladosiphon okamuranus* seaweeds both inhibit viral attachment/entry and cell-cell fusion, in NDV infection. **Marine drugs journal**,vol 13(2), 697-712.
8. Ahmed, O.M., and Ahmed, R.R .(2014). Anti-Proliferative and Apoptotic Efficacies of Ulvan Polysaccharides against Different Types of Carcinoma Cells in Vitro and in Vivo. **Journal Cancer Science**, vol 6: 202-208.
9. Ajanal, M., Gundkalle, M. B., and Nayak, S. U .(2012). Estimation of total alkaloid in Chitrakadivati by UV-Spectrophotometer. **Ancient science of life**, vol 31(4):198-201.
- 10.Al-Ahmad, T., and Al-Deri, F .(2012).Intrinsic viscosity  $[\eta]$ , Kwert-Value and viscosity average molecular relationship for some polymers. **Damascus University Journal for Basic Sciences**, vol 28(2):19-32.
- 11.Al-Bermany A .(2004). **Study of Gamma effect on some physical properties for xanthan cellulose polymer**, M.Sc. thesis, chemistry department, science college, Babylon University.pp 90.

12. Alhajal, O., and Ali-Nizam, A.(2021). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Pistacia atlantica* and *Pinus canariensis* Leaf Extracts. **JOTCSA journal**, vol 8(2):403–18.
13. Ali, M., Salam, A., Iram, S., Bokhari, T. Z., and Qureshi, K. A .(2005). Studies on monthly variations in biological and physico-chemical parameters of brackish water fish pond, Muzaffargarh, Pakistan. **Journal of Research (Science)**, vol 16(1):27-38.
14. Al-Marazeeq, K. M., and Angor, M. M .(2017). Chemical characteristic and sensory evaluation of biscuit enriched with wheat germ and the effect of storage time on the sensory properties for this product. **Food and Nutrition Sciences**, vol 8(2):189–195.
15. Akinyemi, S. A.(2012). Conservation status of physico-chemical and algal components of awon reservoir. **Archives of Applied Science Research**, vol: 4(5),2274-2279.
16. Amoako, K.K., Janzen, T.W., Shields, M.J., Hahn, K.R., Thomas, M.C., and Goji, N.O.(2013). Rapid detection and identification of *Bacillus anthracis* in food using pyrosequencing technology. **International Journal of Food Microbiology**, vol 165 :319–325
17. Andersen, R.(2005). **Algal Culturing Techniques**. Academic Press, San Diego, pp578. Hardcover ISBN: 9780120884261.
18. John, A.(2005). Long-Term Macroalgal Culture Maintenance In: Andersen R.(Ed.), **Algae Culturing Techniques**. San Diego. USA: Elsevier Academic Press; pp.590. ISBN: 0-12-088426-7.
19. Andhare, P., Goswami, D., Delattre, C., Pierre, G., Michaud, P., and Hilar- Pathak, H.(2017). Edifying the strategy for the finest extraction of succinoglycan from *Rhizobium radiobacter* strain CAS. **Applied Biological Chemistry**, vol 60(3):339-348.
20. AOAC. (2008). **Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis, 16th Ed.** Washinton, U.S.A. pp 12-33.71.
21. APHA :American public Health Association.(2003). **Standard methods for examination of water and wastewater, 20th Ed.** Washinton, U.S.A. pp 14-41.110.

- 22.Arata P.X., Alberghina J., Confalonieri V., Errea M.I., Jose M., Estevez J.M., and Ciancia M.(2017). Sulfated polysaccharides in the freshwater green macroalga *Cladophora surerant* not linked to salinity adaptation. **Frontiers in Plant Science**, vol 8 (Article ID 1927):1-10.
- 23.Archana, G., Sabina, K., Babuskin, S., Radhakrishnan, K., Fayidh, M. A., Babu, P. A. S., and Sukumar, M .(2013). Preparation and characterization of mucilage polysaccharide for biomedical applications. **Carbohydrate polymers**, vol 98(1):89-94.
- 24.Arepally, D., Reddy, R. S., Goswami, T. K., and Datta, A. K .(2020). Biscuit baking: A review. **Journal of basic education**, vol 23:51-62.
- 25.Al-Helwany,Z.,Nizam.A.A.,Yones,A.A.(2021). Evaluation of the Bioactivities of Plant Extractions from *Lavandula stoechas* L. and *Phlomis syriaca* Boiss on Some Pathogenic Microorganisms Isolated from Local Fresh Red Meat. **Palestinian Journal of Technology and Applied Sciences**, vol 4:1-7.
- 26.Al-Moula, M. S., and Dwaish, A. S .(2017). Detection of some active compounds from algae *Cladophora glomerata* and *Chara vulgaris* which isolated from water canal in Baghdad University. **journal of the college of basic education**, vol 23(99): 51-62.
- 27.Araya, T.,Noguchi, K., and Terashima, I .(2010). Effect of nitrogen nutrition on the carbohydrate repression of photosynthesis in leaves of *Phaseolus vulgaris* L. **Journal of Plant Research**, vol 123: 371-379.
- 28.Arumugam,M., Agarwal, A., Arya, M.C., and Ahmed,Z.(2013). Influence of nitrogen sources on biomass productivity of microalgae *Scenedes musbijugatus*, **Bioresource Technoloy**, vol 131:246–249.
- 29.Athbi, A.M., Mali,D.S., and Abaas,A.N.(2009). Extraction and identification of total proteins and some amino acids in the green alga *Cladophora crispata*(Chlorophyta). **Mesopotamian Journal of Marine Science**, vol 24 (2):140 – 147.
- 30.Athbi, A.M., Ali D.S., and Abaas, A.N.(2012).The quantity determination of total carbohydrates and monosaccharides from some green algae (Chlorophyta),**Marsh Bulletin Journal**, vol 7(1):27-38.

- 31.Barakat, K. M., Ismail. M. M., Abou El Hassayeb. H. E., El Sersy, N. A., and ,Elshobary, M. E .(2022). Chemical characterization and biological activities of ulvan extracted from *Ulva fasciata* (Chlorophyta). **Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche Naturali**, vol 33:829–841.
- 32.Baylis, C., Uyttendaele, M., Joosten, H., and Davies, A .(2011). The **Enterobacteriaceae and their significance to the food industry**. (Brussels: ILSI Europe Emerging Microbiological).pp 52.
33. Belcher, H., and Swale, E .(1982).**Culturing Algae** .Institute of Terrestrial Ecology.Cambridge .pp25.
- 34.Bergey,I.,and Hendricks,D.(1977).**the shorter berge's manual of determinative bacteriology**,eighth edition.terminology,pp1-356.ISBN 0-683-41051-1.
- 35.Berri, M., Slugocki, C., Olivier, M., Helloin, E., Jacques, I.,Salmon, H., Demais, H.L.,Goff M.L., and Collen, P.N.(2016).Marine-sulfated polysaccharides extract of *Ulva armoricana* green algae exhibits an antimicrobial activity and stimulates cytokine expression by intestinal epithelial cells. **Journal of Applied Phycology**, vol 28:1-9.
- 36.Bewicke, D. and Potter, B .(2009).**Chlorella**:TheEmeraldFood.Berkeley,CA. California:USA. Ronin Publishing.pp120.
- 37.Bhuyar, P., Sundararaju, S., Rahim, M. H. A., Unpaprom, Y., Maniam, G. P., and Govindan, N .(2021). Antioxidative study of polysaccharides extracted from red (*Kappaphycus alvarezii*), green (*Kappaphycus striatus*) and brown (*Padina gymnospora*) marine macroalgae/seaweed. **SN Applied Sciences**, vol 3(4):21-44.
- 38.Bilgicli, N., and Levent, H .(2014). Utilization of Lupin (*Lupinus Albus L.*) Flour and Bran with Xylanase Enzyme in Cookie Production. **Legume Research**, vol 37 (3): 264-271.
- 39.Bligh, E.G., and Dyer, W.J.(1959). A Rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, vol 37(8):911-917.
- 40.Bootsma. H., Young. E., and Berges. J .(2005). **Cladophora Abundance and Physical / Chemical Conditions in the Milwaukee Region of Lake Michigan**. Wisconsin: Milwaukee. Great Lakes water Institute Technical Report No. 2005-02. University of Wisconsin. pp:59.

41. Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanomana, N., and Chemat, F. (2015). Biorefinery of orange peels waste: a new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin, Ultrasonic Sonochem, vol 24: 72–79.
42. Boulet, J.C., Williams, P., and Doco T.A. (2007). Fourier transform infrared spectroscopy study of wine polysaccharides. Carbohydrate Polymers Journal, vol 69: 79–85.
43. Box, G.E.P., and Behnken, D.W. (1960). Some new three level designs for the study of quantitative variables. Technometrics Journal, vol 2( 4): 455–475.
44. Bryskier, A. (2002). Bacillus anthracis and antibacterial agents. Clin Microbiol Infect, 8: 467–478.
45. Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P. P., and Ferreira, I. C. F. R. (2017). A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits. Food Chemistry, vol 216: 342–346.
46. Cao, D., Ju, X., Pan, P., Deng, J., Wei, Z., Hui, M., Ma, R., and Shi, X. (2015). Effects of  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  on growth and physiological characteristics of green algae *Cladophora*. Environmental Science and Pollution Research, vol 22(21): 16535–16541.
47. Caponio, F., Summo, C., Delcuratolo, D., and Pasqualone, A. (2006). Quality of the lipid fraction of Italian biscuits. Journal of the Science of Food and Agriculture, vol 86(3): 356–361.
48. Celekli, A., Arslanargun, H., Soysal, C., Gultekin, E., and Bozkurt, H. (2016). Biochemical responses of filamentous algae in different aquatic ecosystems in south east Turkey and associated water quality parameters. Ecotoxicology and Environmental safety journal, vol 133: 403–412.
49. Celekli, A., and Bulut, H. (2020). Biochemical and morphological responses to cadmium-induced oxidative stress in *Cladophora glomerata*. Turkish Journal of Botany, vol 44(3): 222–231.

- 50.Champa, P., Whangchai, N., Jaturonglumlert, S., Nakao, N., and Whangchai, K. (2016). Determination of phytochemical compound from *Spirogyra* sp. using ultrasonic assisted extraction. **GEOMATE Journal**, vol 11(24):2391-2396.
- 51.Chauhan, A., Saxena, D. C., and Singh, S .(2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (*Amaranthus* spp.) flour. **LWT-Food Science and Technology**, vol 63(2): 939-945.
- 52.Chen, H., Zhang, M., and Xie, B.J .(2004). Quantification of uronic acids in tea polysaccharide conjugates and their antioxidant properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol.52(11):3333-3336.
- 53.Chopin, T., Gallant, T., and Davison, I.(1985). Phosphorus and nitrogen nutrition in *Chondrus crispus* (Rhodophyta): effects on total phosphorus and nitrogen content, carrageenan production, and photosynthetic pigments and metabolism. **Journal of Phycology**, vol 31: 283-293.
- 54.Cui, H. Y., Niranjana Murthy, H., Moh, S. H., Cui, Y. Y., Lee, E. J., and Paek, K. Y .(2014). Comparison of conventional and ultrasound-assisted methods for extraction of nutraceutical compounds from *Dendrobium candidum*. **CyTA-Journal of Food**, vol 12(4), 355-359.
- 55.Cui, Y., Zhou, J., Chen, X., Li, Y., Xu, Z., Duan, B., and Yao, H .(2018). Complete chloroplast genomes of *Papaver rhoeas* and *Papaver orientale*: molecular structures, comparative analysis, and phylogenetic analysis. **Molecules journal**, vol 23(2):437-449.
- 56.Conforti, P. A., and Patrignani, M.(2021). Increase in the antioxidant content in biscuits by infusions or *Prosopis chilensis* pod flour. **Open Agriculture**, vol 6(1): 243–253.
- 57.Dahunsi, O. S .(2013). **Investigation of stress relaxation in hydrated gluten networks using spectral analysis**. (Doctoral dissertation, University of Huddersfield, Hud.ac.uk.pp 233.
- 58.De Jesus Raposo, M..F., de Moraes, M.B., and de Moraes, R.M.S.C.(2014). Influence of sulphate on the composition and antibacterial and antiviral properties of the exopolysaccharide from *Porphyridium cruentum*. **Life Sciences**, vol 101:56-63.

59. De Paula Silva, P. H., De Nys, R., and Paul, N. A. (2012). Seasonal growth dynamics and resilience of the green tide alga *Cladophora coelothrix* in high-nutrient tropical aquaculture. **Aquaculture Environment Interactions**, vol 2(3):253-266.
60. Dere, S., Gunes, T., and Sivaci, R. (1998). Spectrophotometric determination of chlorophyll - a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. **Turkey Journal of Botany**, vol 22:13-17.
61. Digrak, M., Alma, M. H., and Ilcim, A. (2001). Antibacterial and antifungal activities of Turkish medicinal plants. **Pharmaceutical Biology**, vol 39(5): 346-350.
62. Dobrincic, A., Pedisic, S., Zoric, Z., Jurin, M., Roje, M., Rakovac, R.C., and Uzelac, V.D. (2020). Advanced Technologies for the Extraction of Marine Brown Algal Polysaccharides, **Marine Druge journal**, vol 10(7): 1-29.
63. Dodds, W.K., and Gudder, D.A. (1992). The ecology of *Cladophora*. **Journal of Phycology**, vol 28(4):415 - 427.
64. Dong, W., and Hosney, R. (1995). Effects of certain breadmaking oxidants and reducing agents on dough rheological properties. **Cereal Chemistry**, vol 72(1):58–63.
65. Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J., Rebers, P., and Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical Chemistry journal**, vol:28(3): 350-356.
66. Elenkov, L., Stefanov, K., Dimitrova, S., and Popov, S. (1996). Effect of salinity on lipid composition of *Cladophora vagabunda*. **Phytochemistry journal**, vol:42(1):39–44.
67. El-Swaify, Z. (2017). Phytochemical studies on *Cladophora* species from the Nil River Edges, Egypt. **International Journal of Chemical Science**, vol 1(2):13-22.
68. Epand, R.M., Walker, C., Epand, R.F., and Magarvey, N.A. (2016). Molecular mechanisms of membrane targeting antibiotics. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes**, vol 1858(5): 980-987.
69. Esmaeili, F., Hashemiravan, M., Eshaghi, M. R., and Gandomi, H. (2021). Optimization of aqueous extraction conditions of inulin from the *Arctium lappa* L. roots Using ultrasonic irradiation frequency. **Journal of Food Quality**, Article ID 5520996:1-12.

- 70.Essa, H., Fleita, D., Rifaat, D., Samy, S., and El-Sayed, M .(2018). Towards optimizing the conventional and ultrasonic-assisted extraction of sulfated polysaccharides from marine algae. **Materials Science and Engineering**, vol 464(1):1-17.
- 71.Fabregas, J., Ferron, L., Abalde,J., Cabezas, B., and Otero, A .(1995). Changes in the gross chemical composition of mass cultures of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta* with different aeration rates. **BioresrsTechnology**, vol 53(2):185-198.
- 72.Fabrowska, J., Messyas, B., Pankiewicz, R., Wilinska, P., and Lęska,B .(2018). Seasonal differences in the content of phenols and pigments in thallic of freshwater *Cladophora glomerata* and its habitat. **Water Research journal**,vol 135:66-74.
- 73.Fang,l., Leliaert,f., Zhang,z., Penny,d., and Zhong,b.(2017). Evolution of the Chlorophyta: Insights from chloroplast phylogenomic analyses **Journal of Systematics and Evolution**, vol 55(4):322 –332.
- 74.Fatemeh,L., and Mohsen,D.(2016). Effects of Environmental Factors on the Growth, Optical Density and Biomass of the Green Algae *Chlorella Vulgaris* in Outdoor Conditions. **Journal of Applied Science and Environtal Management**,vol 20(1):133-139 .
- 75.Feng, S.M., Luo, Z.S., Tao, B.P., Chen, C.(2015). Ultrasonic-assisted extraction and purification of phenolic compounds from sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) rind. **LWT-Food Science Technology**.vol 60, 970–976.
- 76.Fernandez, N.F., and Munoz, M. J. G .(2018). Ultrasound-assisted extraction of bioactive carbohydrates. In: GonzalezH.D. and MunozM. J. G. (Ed.), **Water extraction of Bioactive Compounds: From Plants to Drug Development**. Elsevier Science: Amsterdam,pp:317-331.
- 77.Fernando, I. P. S., Kim, K.N., Kim,D., and Jeon, Y.J .(2018). Algal polysaccharides: potential bioactive substances for cosmeceutical applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, vol 39(1):1-15.
- 78.Ferruzzi, M. G., and Blakeslee, J .(2007). Digestion, absorption, and cancer preventative activity of dietary chlorophyll derivatives. **Nutrition Research journal**, vol 27(1):1–12.

- 79.Figueira,T.A., Martins,N.T., Ostrock,L.A., Plastino,E.M.,Prast,A.E., and de Oliveira,V.P .(2021).The effects of phosphate on physiological responses and carbohydrate production in *Ulva fasciata* (Chlorophyta) from upwelling and non upwelling sites.**Botanica Marina journal**, vol 64(1): 1–11.
- 80.Finke, E.J., Beyer, W., Loderstädt, U., and Frickmann, H .(2020). Review: The risk of contracting anthrax from spore-contaminated soil - a military medical perspective. **European Journal of Microbiology and Immunology**, 10(2): 29-63.
- 81.Fourniere, M., Latire, T., Lang, M., Terme, N., Bourgougnon, N., and Bedoux, G.(2019). Production of active poly- and oligosaccharidic fractions from *ulva* sp. by combining enzyme-assisted extraction (EAE) and depolymerization. **Metabolites**, vol 182: 1-23.
- 82.Gacesa, P .(1998). Bacterial alginate biosynthesis–recent progress and future prospects. **Microbiology**, vol 144(5): 1133-1143.
- 83.Gallagher,E., O’Brien, C. M., Scannell, A. G. M., and Arendt, E. K .(2003). Evaluation of sugar replacers in short dough biscuit production. **Journal of Food Engineering**, vol 56(2–3):261–263.
- 84.Ghaedi, M., Shokrollahi,A., Ahmadi,F., Rajabi,H.R., and Soylak,M .(2008). Cloud point extraction for the determination of Copper, Nickel and Cobalt ions in Environmental samples by flame atomic absorption spectrometry. **Journal of Hazardous Materials**, vol 150: 533–540.
- 85.Ghoneim, M. A., Hassan, A. I., Mahmoud, M. G., and Asker, M. S .(2016). Effect of polysaccharide from *Bacillus subtilis* sp. on cardiovascular diseases and atherogenic indices in diabetic rats. **complementary and alternative medicine**, vol 16(1): 1-12.
- 86.Goesaert, H., Brijs, K., Veraverbeke, W. S., Courtin, C. M., Gebruers, K., and Delcour, J. A .(2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. **Trends in Food Science and Technology**, vol 16(1–3): 12–30.
- 87.Golan, D.E., Tashjian, A.H., Armstrong, E.J.(2011). **Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of DrugTherapy**; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, USA.pp 180.

- 88.Gordillo, F. J., Jimenez, C., Figueroa, F. L., and Niell, F. X .(1998). Effects of increased atmospheric CO<sub>2</sub> and N supply on photosynthesis, growth and cell composition of the *cyanobacterium Spirulina platensis* (Arthrospira). **Journal of Applied Phycology**,vol 10:461-469.
- 89.Gouveia, L.,Coutinho, C., Mendonça, E., Batista, A. P., Sousa, I., Bandarra, N. M., and Raymundo, A .(2008). Functional biscuits with PUFA-ω3 fromIsochrysis galbana. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol 88(5): 891–896.
- 90.Graca, C., Fradinho, P., Sousa, I., and Raymundo, A .(2018). Impact of *Chlorella vulgaris* on the rheology of wheat flour dough and bread texture. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie (LWT)**,vol 89: 466-474.
- 91.Graham, L.E., and Wilcox, L.W.(2000). **Algae**. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey , USA pp 640.
- 92.Gray, J. A., and Bemiller, J. N .(2003). Bread staling: Molecular basis and control. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**,vol 2(1):1–21.
- 93.Greg, C., and David, L.(2003).Effects of light and nutrient availability on the growth,allocation, carbon/nitrogen balance, phenolic chemistry and resistance to herbivory of two freshwater macrophytes.**Ecophysiology Journal**,vol 137:32–41.
- 94.Guang, B.Y., long, Y.D., Jun, H.V., Min, L.Y., and Xia, H.M.(2012). Study on ultrasonic-assisted extraction of polysaccharide of atractylis macrocephala koidz of experiment. **International Conference on Future Electrical Power and Energy Systems. Energy Procedia**,vol 17:1778 – 1785.
- 95.Guo, L., Fang, F., Zhang, Y., Xu, D., Jin, Z., and Xu, X .(2021).Glutathione affects rheology and water distribution of wheat dough by changing gluten conformation and protein depolymerisation. **International Journal of Food Science and Technology**, vol 56(7):3157–3175.
- 96.Gzella, A. G., Makuch, M. D., And Matlawska, I.(2012). Dpph Radical Scavenging activity and Phenolic Compound Content In Different Leaf Extracts From *Selected Blackberry* Species. **Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica** .vol 54(2): 32–38.
- 97.Halpern. A., and Reeves, J .(1988). **Experimental Physical Chemistry**, publisher :Scott and Foresman,pp387.

- 98.Hampel, K.(2013).**The Characterization of Algae Grown on Nutrient Removal Systems and Evaluation of Potential Uses for the Resulting Biomass.** Ph.D. dissertation ,Western Michigan University,USA.pp221.
- 99.Hans,N., Malik,A., and Naik, S.(2021). Antiviral activity of sulfated polysaccharides from marine algae and its application in combating COVID-19: Mini review. **Bioresource Technology Reports**, vol 13 (100623):1-11.
- 100.Hariharasubramanian, J., Baik, O. D., and Singhal, R. S .(2015). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of polysaccharide from dried biomass of *sargassum muticum*. **Transactions of the ASABE**, vol 58(5): 1363-1370.
- 91.Harris, G.P.(1986). **PHYTOPLANKTON ECOLOGY: STRUCTURE, FUNCTION AND FLUCTUATION;** CHAPMAN AND HALL:New York, USA.PP 315. ISBN 978-0-412-30690-7
- 92.Hassan, A. H., Noor-El Deen, A. E., Galal, H. M., Dorgham, S. M., Bakry, M. A., and Hakim, A. S .(2012). Further characterization of Enterobacteriaceae isolated from cultured freshwater fish in Kafr El Shiek governorate: clinical, biochemical and histopathological study with emphasis on treatment trials. **Global Veterinaria**,vol 9(5): 617-629.
- 93.He, M., Yang, Y., Shao, Z., Zhang, J., Feng, C.,Wang, L., and Mao, W.(2021).Chemical Structure and Anticoagulant Property of a Novel Sulfated Polysaccharide from the Green Alga *Cladophora oligoclada*. **Marin Drugs journal**, vol 19(10:554): 1-20.
- 94.Heraud, P., Wood, B.R., Tobin, M.J., Beardall, J., and McNaughton, D.(2005). Mapping of nutrient-induced biochemical changes in living algal cells using synchrotron infrared microspectroscopy. **Federation of European Microbiological Societies(FEMS) Microbiology Letters**, vol 249: 219–225.
- 95.Herbert,D., Phillips, P. J., and Strange, R.E.(1971).**Chemical analysis of microbial cells.**In: Methods in Microbiology .Eds:J.R.Naris and D.W.Robbins. Academic press. London.pp:210-344.
- 96.Hernandez, Y., Lobo, M. G., and González, M .(2009). Factors affecting sample extraction in the liquid chromatographic determination of organic acids in *papaya* and *pineapple*. **Food Chemistry**, vol 114(2):734-741.

97. Higgins, S.N., Malkin, S.Y., Todd Howell, E., Guildford, S.J., Campbell, L., Hiriart-Baer, V., and Hecky, R.E .(2008). An ecological review of *Cladophora glomerata* (Chlorophyta) in the Laurentian Great Lakes. *Journal of Phycology*. 44:839–854.
- 98.Hoffman,R.G., Lasater, J.A., and Houk, L.W.(1974).Nutrient limitation of algal growth in the Eau Gallie river.**Bullentin of Environmental Contamination and Toxicology**, vol 12:587-593.
- 99.Hofman, P.J., Vuthapanich, S., Whiley, A.W., Klieber, A., and Simons, D.H.(2002). Tree yield and fruit minerals concentrations influence “Hass” avocado fruit quality. **Scientia Horticulturae journal**.vol: 92:113–123.
- 100.Holanda, M. L., Melo, V. M. M., Silva, L. M. C. M., Amorim, R. C. N., Pereira, M. G., and Benevides, N. M. B.(2005). Differential activity of a lectin from *Solieria filiformis* against human pathogenic bacteria. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, vol 38: 1769-1773.
- 101.Holeckova, B., Holoda, E., Fotta, M., Kalinácova, V., Gondol, J., and Grolmus, J .(2002). Occurrence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in food. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, vol 9(2):119-136.
- 102.Hu, Q .(2004).**Environmental Effects on Cell Composition**. In Handbook of Microalgal Culture:Biotechnology and Applied Phycology (Richmond, A Ed.); Blackwell: Oxford, UK, pp 83–93.
- 103.Huang, X.H., Li, C.L., Liu, C.W., and Zeng, Q .(2002).Studies on the Ecological factors of *Oocystis borgei*. **Journal of Zhanjiang Ocean Univsity**,vol 22(3):8-12.
- 104.Hussein, A. S., Ibrahim, G. S., Asker, M. M. S., and Mahmoud, M. G .(2010). Exopolysaccharide from *Lactobacillus helveticus*: identification of chemical structure and effect on biscuit duality. **Czech Journal of Food Sciences**,vol 28(3): 225–232.
- 105.Hussain, M. Y., Ali-Nizam, A. A., and Abou-Isba, S. M .(2017). Antibacterial Activities (Bacitracin A and Polymyxin B) of Lyophilized Extracts from Indigenous *Bacillus subtilis* Against *Staphylococcus aureus*. **Jordan Journal of Biological Sciences**, vol 10(3):505-512.
- 106.Imjongjairaka, S., Ratanakhanokchaia, K., Laohakunjita, N., Tachaapaikoonb, C., Pason, P., and Waeonukulb, R.(2016). Biochemical characteristics and antioxidant

activity of crude and purified sulfated polysaccharides from *Gracilaria fisheri*.

**Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry journal**, vol 80(30):524-532.

107.Ismail, S. A.(2013). Extracellular polysaccharides produced by the newly discovered source *Scopularis* spp. **Egyptian Pharmaceutical Journal**, vol 12(1):1-36.

108.Ivanova, V., Rouseva, R., Kolarova, M., Serkedjieva, J., Rachev, R., and Manolova, N.(1994). Isolation of a polysaccharide with antiviral effect from *Ulva lactuca* Prep. **Biochemistry journal**, vol 24:83–97.

109.Izzreen, I., and Noriham, A .(2011). Evaluation of the antioxidant potential of some Malaysian herbal aqueous extracts as compared with synthetic antioxidants and ascorbic acid in cakes. **International Food Research Journal**, vol 18(2):201-207

110.Joanne, F., Doleman,a., Katrijn Grisar,a., Lena Van Liedekerke,a., Shikha Saha,a., Mark Roe,b., Henri, S., Tapp,c., and Richard F. M.(2017). The contribution of alliaceous and cruciferous vegetables to dietary sulphur intake. **Food Chemtry journal**, vol 1(234): 38–45.

111.Joye, I. J., Lagrain, B., and Delcour, J. A .(2009). Endogenous redox agents and enzymes that affect protein network formation during breadmaking – A review. **Journal of Cereal Science**, vol 50(1), 1–10.

112.Jun, J. Y., Jung, M. J., Jeong, I. H., Yamazaki, K., Kawai, Y., and Kim, B. M. (2018). Antimicrobial and antibiofilm activities of sulfated polysaccharides from marine algae against dental plaque bacteria. **Marine drugs**, vol 16(9): 301-317.

113.Juneja, A., Ceballos,R.M., and Murthy, G.S.(2013). Effects of Environmental Factors and Nutrient Availability on the Biochemical Composition of Algae for Biofuels Production. **Energies**, vol 6: 4607-4638.

114.Kalacheva, G., Zhila, N.,Volova, T.,and Gladyshev, M.(2002). The effect of temperature on the lipid composition of the green alga *Botryococcus*. **Microbiology journal**,vol 71:286–293.

115.Kallqvist,T., and Svenson,A.(2003). Assessment of ammonia toxicity in tests with the microalga,*Nephroselmis pyriformis*, Chlorophyta, **Water Research journal**, vol 37: 477–484.

- 116.Kallswari, G., Mahendran, S., Subalakshmi, P., Shankar, T., and Ponmanickam, P.(2016). Purification, Characterization and Antioxidant Activity of Green Seaweed *Codium* sp. **Advances in Pharmacology and Pharmacy**,vol 4(2): 16-21,
- 117.Karan,T and Erenler,R.(2018). Fatty acid constituents and anticancer activity of *Cladophora fracta* (OF Müller ex Vahl) Kützing. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, vol 17 (10): 1977-1982.
- 118.Kaur, G., and Asthir, B.(2015). Proline: a key player in plant abiotic stress tolerance. **Biological of Plant**, vol 59:609–619.
- 119.Kaur, M., Sandhu, K. S., Arora, A., and Sharma, A .(2015). Gluten free biscuits prepared from buckwheat flour by incorporation of various gums: Physicochemical and sensory properties. **LWT-Food Science and Technology**, vol 62(1): 628-632.
- 120.Kaushik, R., Sharma, N., Swami, N., Sihag, M., Goyal, A., Chawla, P., Kumar, A., and Pawar, A .(2019). Physico-chemical properties, extraction and characterization of gluten from different Indian wheat cultivars. **Journal of Crop Science and Technology**,vol 2(2):37–42.
- 121.Khalaf, A.K.h., Al-Mayah, S.H., and Athbi, A.M.(2011). Antiprotoscolices activity of nonadecoic acid ; phthalic acid, diflorophenyl undecyl ester and 1,2-Benzendicarboxylic acid , Bis (2-Ethylhexyl ) ester extracted from *Cladophora crispata* and *Hapalosihon aureus* Compared with Albendazole. **Thi-Qar Medical Journal (TQMJ)**, vol 5(2): 69-81.
- 122.Khan, B. M., and Liu, Y .(2019). Marine mollusks: Food with benefits. **ComprehensiveReviews in Food Science and Food Safety**, vol 18(2): 548-564.
- 123.Khuantrairong,T., and Traichaiyaporn,S .(2011). The nutritional value of edible freshwater alga *Cladophora* sp. (Chlorophyta) grown under different phosphorus concentrations. **International Journal Agriculture and Biology**,vol 13:297–300.
- 124.Khuras, I., Ahmad, N., Jan, S., and Barinova, S .(2014). Freshwater green algal biofouling of boats in the Kabul River, Pakistan. **Oceanological and Hydrobiological Studies**, 43, 329-336.

- 125.Kidgell, J.T., Magnusson, M., de Nys, R., and Glasson, C.R.K.(2019). Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function. **Algal Res arch journal**, vol 39(101422):1-21.
- 126.Kilham, S., Kreeger, D., Goulden, C., and Lynn, S .(1997). Effects of nutrient limitation on biochemical constituents of *Ankistrodesmus falcatus*. **Freshwater Biology**, vol 38(3): 591-596.
- 127.Kim, S. H., An, H., Wei, C. I., Visessanguan, W., Benjakul, S., Morrissey, M. T., and Pitta, T. P .(2003). Molecular detection of a histamine former, *Morganella morganii*, in albacore, mackerel, sardine, and a processing plant. **Journal of Food Science**, 68(2): 453-457.
- 128.Kim, S. J., Murthy, H. N., Hahn, E. J., Lee, H. L., and Paek, K. Y.(2007). Parameters affecting the extraction of ginsenosides from the adventitious roots of ginseng (*Panax ginseng* CA Meyer). **Separation and Purification Technology**, vol 56(3):401-406.
- 129.Konopka, A., and Brock, T.D.(1978). Effect of temperature on blue-green algae (*Cyanobacteria*) in lake Mendota. **Application and Environtal Microbiol**, vol 36(4): 572-576.
- 130.Kraan, S.(2012). Algae polysaccharides, novel applications and outlook, in: Chang CF. (Ed.), **Carbohydrates - Comprehensive Studies on Glycobiology and Glycotechnology**,pp 489–532. Rijeka, Croatia.
- 131.Ksuz, T., and Karakas , B .(2016). Sensory and textural evaluation of gluten-free biscuits containing buckwheat flour. **Cogent Food and Agriculture**, vol 2(1): 1-13.
- 132.Kumar, N., Khatkar, B. S., and Kaushik, R .(2013). Effect of reducing agents on wheat gluten and quality characteristics of flour and cookies. **The Annals of the University “Dunorea de Jos” of Galaoi**, vol 37(2): 68–81.
- 133.Kumar, K., Srivastav, S.,and Sharanagat, V.S .(2021).Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products- A review, **Ultrasonics Sonochemistry journal**, vol 70(105325):1-11.
- 134.Kuru, I., Selcuk ,O., Pinar, K., Akbas, F., Isikalan, C., and Namli, S .(2017). The evaluation of total phenolic, flavonoid, sugar contents and antioxidant activity of *tayfi grape* in Turkey. **Batman University Journal of Life Sciences**,vol 7(2):14-22.

- 135.Lapointe, B. E.(1986). Phosphorus-limited photosynthesis and growth of *Sargassum natans* and *Sargassum fluitans* (Phaeophyceae) in the western North Atlantic. **Deep Sea Research**, vol 33(3): 391-399.
- 136.Larmond, E .(1991). **Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food. 2nd Edition**, Department of Agriculture Publication, Ottawa, Canadian.pp 17.
- 137.Latala, A.(1991). Effects of salinity temperature and light on the growth and morphology of green *planktonic* algae. **OCEANOLOGIA**, vol 3(1): 119-138.
- 138.Lawton, R.J., Nys, R.De., and Paul. N.A .(2013). Selecting reliable and robust freshwater macroalgae for biomass applications, **PLoS One**, vol 8(5):1-7.
- 139.Le, B.,Golokhvast,K.S.,Yang,S.H.,Sun,S.(2019).Optimization of microwave-assisted extraction of polysaccharides from *Ulvapertusa* and evaluation of their antioxidant activity.**Antioxidants, Special Issue Marine Algal Antioxidants**, vol 8(5:129):1-14.
- 140.Lee, R .(2008). Phycology, 4th edn. Published Cambridge; New York :Cambridge University Press, pp1–645.
- 141.Leliaert, F., Boedeker, C., Pena, V., Bunker, F., Verbruggen, H., and De Clerck, O .(2009). *Cladophora rhodolithicola* sp. nov.(*Cladophorales*, *Chlorophyta*), a diminutive species from European maerl beds. **European Journal of Phycology**, vol 44(2): 155-169.
- 142.Li, Q., Yu,N., Wang, Y., Sun, Y., Lu,K., Guan, W.(2013).Extraction optimization of *Bruguiera gymnorrhiza* polysaccharides with radical scavenging activities. **Carbohydrate Polymers journal**, vol 96(1):148-155.
- 143.Lichtenthaler, H., Kanda.R., and wellburn. A.(1985). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b or leaf in dissolved solvents. **Biological SocietyTrans**,vol 11:591-592.
- 144.Lima-Filho, J. V. M., Carvalho, A. F., Freitas, S. M., and Melo, V. M .(2002). Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern brazilian coast. **Brazilian journal of Microbiology**, vol 33: 311-314.
- 145.Liu, C.Y., Shepherd, K. W., and Rathjen, A. J .(1996). Improvement of durum wheat pastamaking and breadmaking qualities. **Cereal chemstriy journal**, vol 73(2):155-166.

- 146.Liu,k.(2017).Characterization of Ash in Algae and Other Materials of Wet Acid Indigestible Ash and Microscopic Examination, sciencedirect,1-40.
- 147.Liu, Y., Ma, Y., Chen, Z., Li, D., Liu, W., Huang, L., Zou, C.,Cao, M., Liu, G., and Wang, Y.(2020).Antibacterial Activity of Sulfated Galactans from *Eucheuma serra* and *Gracilari verrucosa* against Diarrheagenic *Escherichia coli* via the Disruption of the Cell Membrane Structure. Marien Drugs, vol 18:397-412.
- 148.Mahdi-Pour, B., Jothy, S. L., Latha, L. Y., Chen, Y., and Sasidharan, S. (2012). Antioxidant activity of methanol extracts of different parts of *Lantana camara*. Asian Pacific journal of tropical biomedicine, vol 2(12): 960-975.
- 149.Mahmood, S. J. and Siddique, Z .(2010).Ionic studies of sodium alginate isolated from *Sargassum terrarium* (brown algae) Karachi coast with electrolyte. Journal of Saudi Chemical Society, vol 14:117-123.
- 150.Makhlouf, B., Medouni, L., Adrar, S.M., Arkoub,L., and Madani, K .(2013). Effect of solvents extraction on phenolic content and antioxidative activity of the byproduct of eggplant. Industrial Crops and Products, vol 49: 668-674.
- 151.Manohar, R. S., and Rao, P. H .(1997). Effect of mixing period and additives on the rheological characteristics of dough and quality of biscuits. Journal of Cereal Science, vol 25(2): 197–206.
- 152.Mazumder, S., Ghosal, P. K., Pujol, C. A., Carlucci, M. J., Damonte, E. B., and Ray, B .(2002). Isolation, chemical investigation and antiviral activity of polysaccharides from *Gracilaria corticata* (Gracilariaceae, Rhodophyta). International journal of biological macromolecules, vol 31(1-3):87-95.
- 153.Meenakshi, S., Saravanan,R., Balasubramanian,T., and Palavesam,A.(2019). In vivo administration of fucoidan from *Turbinaria decurrens* protects shrimps from white spot syndrome virus.Indian Journal of Geo Marine Sciences,vol 48 (02): 212-216.
- 154.Menegol, T., Diprat, A.B., Rodrigues, E., and Rech, R.(2017).effect of temperature and nitrogen concentration on Biomass composition of *Heterochlorella luteoviridis*. Journal of Food Science And Technology, vol 37(Special Issue): 28-37.

- 155.Messyasz, B., Leska, B., Fabrowska, J., Pikosz, M., Roj, C., Edward, A., and Schroeder,G .(2015). Biomass of freshwater *Cladophora* as a raw material for agriculture and the cosmetic industry. **Open Chemistry journal**,vol 13:1108–1118.
- 156.Meyer, M. D., and Terry, L. A .(2008). Development of a rapid method for the sequential extraction and subsequent quantification of fatty acids and sugars from *avocado mesocarp* tissue. **Journal of agricultural and food chemistry**, vol 56(16): 7439-7445.
- 157.Mezghani, S., Bourguiba, I., Hfaiedh, I., And Amri, M.(2013). Antioxidant Potential Of *Ulva Rigida* Extracts:Protection Of Hela Cells Against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Cytotoxicity.**Biological Bulletin**, vol 225: 1–7.
- 158.Michalak, I., and Messyasz, B .(2020). Concise Review of *Cladophora sp.*: Macroalgae of Commercial Interest. **Journal of Applied Phycology**, vol 33:133–166.
- 159.Misra, N. N., Sullivan, C., Pankaj, S. K., Alvarez-Jubete, L., Cama, R., Jacoby, F., and Cullen, P. J .(2014). Enhancement of oil spreadability of biscuit surface by nonthermal barrier discharge plasma. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, vol 26:456-461.
- 160.Munir, N., Imtiaz, A., Sharif ,N., and Naz, S .(2015). Optimization of growth conditions of different algal strains and determination of their lipid contents. **The journal of animal and plant sciences**, vol 25(2): 546-553.
- 161.Munir, M., Qureshib, R., Bibi, M., and Mahmood, K.A .(2019).Pharmaceutical aptitude of *Cladophora*: a comprehensive review. **Algal Research**,vol 39 (101476):1-10.
- 162.Muthukumar, J., Chidambaram, R., and Sukumaran, S.(2020). Sulfated polysaccharides and its commercial applications in food industries - A review; **Journal of Food Science and Technology**, vol 58(7):2453 – 2466.
- 163.Muztar, J., Jabbar, S., Burton, J .(1978). Chemical composition of aquatic macrophytes :investigation of organic constituents and nutritional potential. **Canadian Journal of Plant Science**,vol 58(3): 829-841.
- 164.Moore, L.F., and McLarty, D.A .(1975).The influence of soil water extract and thiamine on growth of *Cladophora glomerata*.**Canadian Journal of Botany**,vol 53:530-535.

- 165.Muzika. R.M .(1993). Terpenes and phenolics in response to nitrogen fertilization: a test of the carbon/nutrient balance hypothesis. **Chemoecology journal**,vol 4:3–7.
- 166.Nitha, B. De. S., Adhikari, S. K., Devasagayam, T. P. A., and Janardhanan, K. K .(2010). Evaluation of free radical scavenging activity of *morel* mushroom, *Morchella esculenta* mycelia: a potential source of therapeutically useful antioxidants. **Pharmaceutical Biology**, vol 48(4):453–460.
- 167.Noorlaila, A., Siti, A. A., Asmed, R., and Norizzah. A. R .(2015). Emulsifying properties of extracted Okra (*Abelmoschus esculentus*) mucilage of different maturity index and its applications in coconut milk emulsion. **International Food Research Journal**, vol 22(2): 782- 787.
- 168.Nutautaite, M., Stupelien, A., Bliznikas, S., Jonuskien, I., Karosien, J., Koreivien, J., and Vilien, V .(2022). Evaluation of phenolic compounds and pigments in freshwater *Cladophora glomerata* biomass from various Lithuanian rivers as a potential future raw material for biotechnology. **Water journal**, 14(7): 11-38.
- 169.Ooi, D. J., Iqbal, S., and Ismail, M .(2012). Proximate composition, nutritional attributes and mineral composition of *Peperomia pellucida* L.(Ketumpangan Air) grown in Malaysia. **Molecules**, vol 17(9): 11139-11145.
- 170.Panahi, H.A., Moniri, E., Izadi, A., Abolhasani, F., Abutorabi, E.S., Abedini, L.,Almasi, S., and Akbarzadeh, A.(2008). Specific Interaction of Boric acid with Carbohydrates and its effect on Thin Layer Chromatography. **Journal of Applied Chemical Research**, vol 9: 52-58.
- 171.Pankiewicz, R., Leska, B., Messyasz, B., Fabrowska, J., Sołoducha, M., and Pikosz, M .(2016). First isolation of polysaccharidic ulvans from the cell walls of freshwater algae. *Algal research*, 19, 348-354.
- 172.Parate, V. R., Pathak, S. S., and Talib, M. I .(2016). Improvement in functional and rheological properties of gluten by enzyme treatment. **IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology**, vol 10(11-2):38-44.
- 173.Parker, J.E., and Maberly, S.C .(2000). Biological response to lake remediation by phosphate stripping: control of *Cladophora*. **Freshwater Biological**, vol 44:303–309.
- 174.Paulert, R., Talamini, V., Cassolato, J. E. F., Duarte, M. E. R., Nosedá, M. D., Smania Jr, A., and Stadnik, M. J .(2009). Effects of sulfated polysaccharide and

alcoholic extracts from green seaweed *Ulva fasciata* on anthracnose severity and growth of common bean (*Phaseolus vulgaris* L). **Journal of Plant Diseases and Protection**, vol 6:263-270.

175.Pawlak, K., Bylka, W., Jazurek, B., Matlawska, I., Sikorska, M., Manikowski, H., and Bialek Bylka, G .(2010). Antioxidant activity of flavonoids of different polarity, assayed by modified ABTS cationradical decolorization and EPR technique. **Acta Biologica Cracoviensia.Series Botanica**, vol 52(1):97–104.

176.Peasura, N., Laohakunjita, N., Kerdchoechuena, O., and Wanlapa, S.(2015).Characteristics and antioxidant of *Ulva intestinalis* sulphated polysaccharides extracted with different solvents. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol 81:912–919.

177.Pengov, A., and Ceru, S.(2003). Antimicrobial Drug Susceptibility of *Staphylococcus Aureus* Strains Isolated from Bovine and Ovine Mammary Glands. **Journal of Dairy Science**, vol 86(10):3157-3163.

178.Pereira, D. T., Simioni, C., Filipin, E. P., Bouvie, F., and Ramlov, F.(2017). Effects of salinity on the physiology of the red macroalga *Acanthophora spicifera* (Rhodophyta, Ceramiales) .**Acta Botanica Brasilica journal**,vol: 31(4): 555-565.

179.Peres, A. M., and Macedo, E. A .(1997). A modified UNIFAC model for the calculation of thermodynamic properties of aqueous and non-aqueous solutions containing sugars. **Fluid Phase Equilibria**, vol 139(1-2):47-74.

180.Perez, M. J.,Falque, E., and Domínguez, H .(2016). Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. **Marine Drugs journal**, vol 14(3): 1-32.

181.Pier, G.B., Sidberry, H.F., Zolyomi, S., and Sadoff, J.C .(1978). Isolation and characterization of a high-molecular-weight polysaccharide from the slime of *Pseudomonas aeruginosa*. **Infection and Immunity**, vol 22(3):908-918.

182.Pierre, G., Sopena, V., Juin, C., Mastouri, A., Graber, M., and Maugard, T. (2011). Antibacterial activity of a sulfated galactan extracted from the marine alga *Chaetomorpha aerea* against *Staphylococcus aureus*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, vol 16: 937-945

183. Pikosz, M., Czerwik, M., and Messyas, B. (2019). The effect of *Cladophora glomerata* exudates on the amino acid composition of *Cladophora fracta* and *Rhizoclonium sp.* **Open Chemistry journal**, vol 17:313–324.
184. Pieper, S., Unterrieser, I., Mann, F. and Mischnick, P. (2012). A new arabinomannan from the cell wall of the chlorococcal algae *Chlorella vulgaris*. **Carbohydrate Research**, vol 352: 166-176.
185. Pokorny, J., and Korczak, J. (2001). Preparation of natural antioxidants. In **Antioxidants in Food, Practical Applications**; Pokorny, J., Yanishlieva, N., Gordon, M., (Eds.); Woodhead-Publishing Ltd., Cambridge, New York, USA, 2, pp. 311–330.
186. Prescott, G.W. (1975). **Algae of The Western Great Lake Area**. 6th Ed., William C. Brown Publisher Dubuque. Cambridge, UK. pp. 977.
187. Promya, J. (2008). **Assessment of immunity stimulating capacity and meat, egg qualities of hybrid Tumtim tilapia ND56 (*Oreochromis sp.*) fed on raw *Spirulina***. Doctoral dissertation, Chiang Mai: Graduate School, Chiang Mai University, Thailand. 247.
188. Ramadan, K., Nader, S., and Ibrahim, A. (2018). Evaluation of sequential extraction of some biological materials from orange fruits peel (*Citrus sinensis*). **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, vol 24(6): 1129–1136.
189. Ramaraj, R., and Dussadee, N. (2015). Biological Purification processes for Biogas using algae cultures: a review. **International journal Sustain Green Energy Special Issue: Renew Energy Appl Agric Field Nat Resour Technol**, vol 4:20-32.
190. Ramaraj, R., Dussadee, N., and Whangchai N. (2015). Microalgae biomass as an alternative substrate in Biogas production. **International journal Sustain Green Energy Special Issue: Renew Energy Appl Agric Field Nat Resour Technol**, vol 4:13-19.
191. Rao, M.A. (1977). Rheology of Liquid Foods -A Review. **Journal of Texture Studies**, vol 8: 135-168.
192. Rao, P. S., Mantri, V. A., and Ganesan, K. (2007). Mineral composition of edible seaweed *Porphyra vietnamensis*. **Food Chemistry journal**, vol: 102:215–218.
193. Raven, J. A. (2013). RNA function and phosphorus use by photosynthetic organisms. **Frontiers in Plant Science**, vol 4(536): 1-13.

- 194.Ray, B .(2005). **Fundamental Food Microbiology**, 3<sup>rd</sup> ed. CRC press. Boca Raton London New York Washington ,D.C. pp230.
- 195.Renaud, S.M., Thinh, L.V., Lambrinidis, G., and Parry, D.L .(2022). Effect of temperature on growth,chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. **Aquaculture journal**, vol 211: 195–214.
- 196.Righini, H.,Baraldi, E., García Fernandez, Y., Martel Quintana, A., and Roberti, R. (2019). Different Antifungal Activity of *Anabaena* sp., *Ecklonia* sp., and *Jania* sp. against *Botrytis cinerea*. **Marine Drugs journal**,vol 17(5): 299-312.
- 197.Robinson, P.K., and Hawkes, H.A .(1986). Studies on the growth of *Cladophora glomerata* in laboratory continuous-flow culture. **British Phycological Journal**,vol:21(4):437-444
- 198.Rodrigo, W. W. P., Magamulla, L. S., Thiwanka, M. S., and Yapa, Y. M. S. M. (2022). Optimization of Growth Conditions to Identify the Superior *Bacillus* Strain Which Produce High Yield of Thermostable Alpha Amylase. **Advances in Enzyme Research**, vol 10(1), 1-22.
- 199.Ross, M.E., Davis,K., McColl, R., Stanley, M.C.,Day,J.G., Semiao, A.J.C.(2018). Nitrogen uptake by the macro-algae *Cladophora coelothrix* and *Cladophora parriaudii*: Influence on growth, nitrogen preference and biochemical composition. **Algal Research**, vol 30: 1–10.
- 200.Roux, R. J .(1994). **Factors Influencing the Growth and Control of Cladophora Glomerata (L) Kutz.** Phycology Honours Project . Bot 400 W .Bolus Library . C24 0004 7860.pp190.
- 201.Ruckert, G. V., and Giani, A .(2004). Effect of nitrate and ammonium on the growth and protein concentration of *Microcystis viridis* Lemmermann (Cyanobacteria). **Brazilian Journal of Botany**, vol 27(2):325-331.
- 202.Safafar, H., Uldall Norregaard, P., Ljubic, A., Moller, P., Lovstad Holdt, S., and Jacobsen, C .(2016). Enhancement of protein and pigment content in two *Chlorella* species cultivated on industrial process water. **Journal of Marine Science and Engineering**, vol 4(4): 84-102.

- 203.Saito, M., and Machida, S .(1999). A rapid identification method for aflatoxin-producing strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* by ammonia vapor. **Mycoscience**, vol 40(2), 205-208.
- 204.Sariyerli, G. S., Sakarya, O., and Akcadag, U. Y .(2018). Comparison tests for the determination of the viscosity values of reference liquids by capillary viscometers and stabinger viscometer SVM 3001. **International Journal of Metrology and Quality Engineering**, vol 9(7):1-13.
- 205.Sakthivel, R ., and Devi, K. P .(2015).Evaluation of physiochemical properties, proximate and nutritional composition of *Gracilaria edulis* collected from palk bay,**Food Chemistry**. vol 1(174):68-74.
- 206.Sandhu, H. P. S., Manthey, F. A., Simsek, S., and Ohm, J.B .(2011). Comparison between potassium bromate and ozone as flour oxidants in breadmaking. **Cereal Chemistry**, vol 88(1):103–108.
- 207.San Jose, F. J., Collado-Fernández, M., and Lopez, R .(2018). Sensory evaluation of biscuits enriched with artichoke fiber-rich powders (*Cynara scolymus* L.). **Food Science and Nutrition**, vol 6(1):160–167.
- 208.Santoso, J.,Yoshie, Y. S., Suzuki, T .(2004). Anti-oxidant activity of methanol extracts from Indonesian seaweeds in an oil emulsion model. **Fisheries Science journal**,vol:70(1):183-188.
- 209.Sapirstein, H. D., David, P., Preston, K. R., and Dexter, J. E .(2007). Durum wheat breadmaking quality: Effects of gluten strength, protein composition, semolina particle size and fermentation time. **Journal of Cereal Science**, vol 45(2):150–161.
- 210.Sas, A.A., Turki,A.J., Affan.A., Al-Taisan,W.A., Das.S.K., Su,S.N.,and Cob,Z.C .(2021).The influence of temperature and nutrient concentrations on growth rate, biomass, Chlorophyll-*a*, and biochemical compositions of *Tetraselmis suecica* (Chlorophyta). **Earth and Environmental Science** , vol 880:1-12.
- 211.Scott, G., and Richardson, P .(1997). The application of computational fluid dynamics in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, vol 8(4):119–124.
- 212.Sereshti, H., Bakhtiari S., and Khojeh V.(2011). Simultaneous determination of aluminum, copper, iron and zinc in *Oscillatoria*, *Juncus littoralis* tissues and wetland

water samples by ultrasound-assisted emulsification-microextraction combined with ICP-OES. **Analytical Methods journal**, vol 3, 2936-2942.

213.Shaker, R., Osaili, T., Al-Omary, W., Jaradat, Z., and Al-Zuby, M. (2007).

Isolation of *Enterobacter sakazakii* and other *Enterobacter sp.* from food and food production environments. **Food Control**, 18(10), 1241-1245.

214.Shao, P., Chen, X., and Sun, P.(2013). In vitro antioxidant and antitumor activities of different sulfatedpolysaccharides isolated from three algaePing. **International Journal of Biological Macromolecules**,vol 62:155-161.

215.Shao,p.,Qin,m., Han,l., and Sun,p .(2014). Rheology and characteristics of sulfated polysaccharides fromchlorophytan seaweeds *Ulva fasciata* .**Carbohydrate Polymers**, vol 113 (1): 365–372.

216.Sheng, C., and Azevedo, J. L. T .(2005). Estimating the higher heating value of biomass fuels from basic analysis data. **Biomass and bioenergy**, vol 28(5): 499-507.

217.Shi, Y., Sheng, J., Yang, F., and Hu, Q .(2007). Purification and identification of polysaccharide derived from *Chlorella pyrenoidosa*. **Food chemistry**, vol 103(1), 101-105.

218.Shijian, G.E., and Pascale, C .(2017). Cultivation of the Marine macroalgae *Chaetomorpha linum* in municipal wastewater for nutrient recovery and Biomass production. **Environmental Science and Technology journal**. vol 51(6).3558-3566.

219.Silva, A. do. AD., Oliveira, JM. De., and Cazetta, ML.(2022).Exopolysaccharyde production by *Cryptococcus laurentii* SD7 using molasses and corn steep liquor as substrates. **Acta Sci Biol Sci**, vol 44(e58543):1-17.

220.Slocombe, S.P., Pross, M.,Thomas, N., and Stanley,M.S .(2013). A rapid and general method for measurement of protein in micro-algal biomass. **Bioresource Technol**, vol 129: 51-57.

221.Smit, A.J.,Robertson,B.L., and Preez,D R.(1997).Influence of ammonium-N pulse concentrations and frequency, tank condition and nitrogen starvation on growth rate and biochemical composition of *Gracilaria gracilis*. **Journal of Applied Phycology**,vol 8: 473-481.

222.Song, Y., and Zheng, Q .(2007). Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. **Trends in Food Science and Technology**, vol 18(3): 132–138.

- 223.Song, H.,He, M.,Gu, C.,Wei, D., Liang, Y., Yan, J.,Wang, C .(2018). Extraction Optimization, Purification, Antioxidant activity, and Preliminary Structural Characterization of Crude Polysaccharide from an Arctic *Chlorella sp*. **Polymers journal**, vol 10(292): 1-18.
- 224.Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Teixeira, J. A., Coimbra, M. A., and Vicente, A. A .(2012). Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. **Food Hydrocolloids**, vol 27(2): 287–292.
- 225.Stauffer, C.E .(1994). **Redox systems in cookie and cracker dough**. In. **The Science of Cookie and Cracker Production** : Faridi, H(Ed) 1<sup>st</sup> ed., Chapman and Hall, New York, USA, Springer: Publishers. pp.227-251.
- 226.Stephenson, A.L., Dennis, J.S., Howe, C.J., Scott, S.A., Smith, A.G.(2010). Influence of nitrogen-limitation regime on the production by *Chlorella vulgaris* of lipids for biodiesel feedstocks. *Biofuels*, vol 1: 47–58.
- 227.Subramanian, V., Ganapathy, K., and Dakshinamoorthy, B .(2015). FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy of alginate extracted from *Turbinaria decurrens* (*Phaeophyta*).**World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science**, vol 4(12):761-771.
- 228.Stein, J.R .(1973). **Handbook of Phycological Methods: Culture Methods and Growth Measurements**. Cambridge University, Cambridge, UK. PP.56-60.445.
- 229.Sudha, M. L.,Vetrimani, R., and Leelavathi, K .(2007). Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. **Food Chemistry**, vol 100(4): 1365–1370.
- 230.Sun, Y., Li, T., Yan, J., and Liu, J .(2010).Technology optimization for polysaccharides (POP) extraction from the fruiting bodies of *Pleurotus ostreatus* by Box–Behnken statistical design.**Carbohydrate Polymers**, vol 80: 242–247.
- 231.Sun, L., Wang, L., Li, J., and Liu, H .(2014). Characterization and antioxidant activities of degraded polysaccharides from two marine *Chrysophyta*. **Food chemistry**, vol 160: 1-7.
- 232.Surayot, U., Lee, J. H.H., Kanongnuch, C., Peerapornpisal,Y.,Park ,W.J., You S.G .(2016). Structural characterization of sulfated arabinans extracted from *Cladophora*

*glomerata* Kutzing and their macrophage activation. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry journal**, vol.80(5):972–982.

233.Swick, M.C., Koehler, T.M., and Driks, A .(2016). Surviving between hosts: Sporulation and transmission. *Microbiology Spectrum*, vol 4(4): 1-29.

234.Tako, M., Tamanaha, M., Tamashiro, Y., and Uechi, S .(2015). Structure of Ulvan Isolated from the Edible Green Seaweed, *Ulva pertusa*. **Advances in Bioscience and Biotechnology**, vol 6: 645-655.

235.Telis, V.R. N., Telis-Romero, J., Mazzotti, H.B., and Gabas., A.L .(2007) Viscosity of Aqueous Carbohydrate Solutions at Different Temperatures and Concentrations. **International Journal of Food Properties**, vol 10(1): 185-195.

236.Teo, C. L., Lai, L. W., and Ani, I.(11-14 December 2013). **Comparison of Walne and F<sub>2</sub> medium in cultivating Tetraselmis sp. and Nannochloropsis sp. for Biomass and lipid production**, International Conference on Industrial Engineering and Management Science Shanghai, China.

237.Teodoro, F., Gomes, F., Pinteus, S., Alves, C., Silva, J., Bernardino, S. M., and Pedrosa, R. P. Evaluation of the antimicrobial potential of sulfated polysaccharides from the marine invasive algae *Asparagopsis armata* (Harvey, 1855)

238.Truong, D. H., Nguyen, D. H., Ta, N. T. A., Bui, A. V., Do, T. H., and Nguyen, H. C .(2019). Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of *Severinia buxifolia*. **Journal of food quality**, vol 8178294:1-9.

239.Turkmen, N., Sari, F., and Velioglu, Y. S .(2006). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. **Food chemistry**, vol 93(4): 713-718.

240.Unpaprom, Y., Whangchai, N., Prasongpol, P., Ramaraj, R.(2020). Antibacterial, antifungal properties and chemical composition of freshwater macroalgae *Cladophora glomerata*. **Journal of Biology and Medicine**, vol.1,1(107):1-12.

241.Van den Hoek, C., Mann, D.G., Jahns, H.M .(1995). Algae: an introduction to phycology. Published Cambridge ; New York : Cambridge University Press.pp 623.

242. Van Ngo, T., Scarlett, C. J., Bowyer, M. C., Ngo, P. D., and Vuong, Q. V. (2017). Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L. **Journal of Food Quality**, vol 9305047:1-8.
243. Vander Zant, C., and Splittstoesser, D.F .(1992). **Compendium of Methods for the Micro-biological Examination of Foods** , 3rd ed , American Public Health Association, Washington.211p.
244. Vazquez-Rodriguez. B., Gutierrez-Urbe, J.A., Antunes-Ricardo, M., Santos-Zea, L., and Cruz-Suarez, L.E.(2019). Ultrasound-assisted extraction of phlorotannins and polysaccharides from *Silvetia compressa* (Phaeophyceae). **Journal of Applied Phycology**, vol 32:1441–1453.
245. Verawaty, M., Melwita, E., Apsari, P., and Wiyahsari, M .(2017). Cultivation Strategy for Freshwater Macro-and Micro-Algae as Biomass Stock for Lipid Production. **Journal of Engineering and Technological Sciences**, vol 49(2):261-274.
246. Vinatoru, M., Mason, T. J., and Calinescu, I .(2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, vol 97: 159-178.
247. Vishwakarma, J., and Vavilala, S. L .(2019). Evaluating the antibacterial and antibiofilm potential of sulphated polysaccharides extracted from green algae *Chlamydomonas reinhardtii*. **Journal of Applied Microbiology**, vol 127(4): 1004-1017.
248. Vo, T.S., and Kim, S.K .(2013). Fucoidans as a natural bioactive ingredient for functional foods. **Journal of Functional Foods**, vol 5(1): 16–27.
249. Wang, X., Wan, Y., Liu, L., Xu, H., Zou, J., Liang, S., Yang, C., and Qi, H. (2021). The study on antioxidant activity of ulvan-calcium derivative. **Journal of Medicinal Plants Research**, vol 15(1):35-44.
250. Wells, M. L., Potin, P., Craigie, J. S., Raven, J. A., Merchant, S. S., Helliwell, K. E., and Brawley, S. H .(2017). Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. **Journal of applied phycology**, vol 29: 949-982.
251. Weibiao, Z. N., and Hui, Y. H .(2014). **Bakery Products Science and Technology**, Wiley-Blackwell Publishing, U K., pp76.

252. Westman, E.L., Matewish, J.M., and Lam, J. S.(2010). **Pathogenesis of bacterial infections in animals**. Edited by Gyles, C.L., Prescott, J. F., Songer, J.G. and Thoen, C.O. 4th ed., Jhonwiley and Sons, Inc., publication, pp 124. ISBN978-1-119-75479-4.
253. Wieser, H .(2007). Chemistry of gluten proteins. **Food Microbiology**, vol 24(2): 115–119.
254. Williams, P .(1997). **Variety development and quality control of wheat in Canada**: Characterization by functionality. In Proceedings of the International Japanese conference on Near-Infrared Reflectance, Japan.
255. Witkowska, A.M., Hickey, D.K., Alonso-Gomez, M., and Wilkinson, M.G. (2011). The microbiological quality of commercial herb and spice preparations used in the formulation of a chicken supreme ready meal and microbial survival following a simulated industrial heating process. **Food Control journal**, vol 22(5): 616-625.
256. Wu, Y., Cui, S.W., Tang, J., and Gu, X .(2007). Optimization of extraction process of crude polysaccharides from boat-fruited Sterculia seeds by response surface methodology. **Journal of Food Chemistry**, vol.105:1599-1605.
257. Wu, S., Li, F., Jia, S., Ren, H., Gong, G., Wang, Y., and Lv, Z .(2014). Drying effects on the antioxidant properties of polysaccharides obtained from *Agaricus blazei* Murrill. **Carbohydrate polymers**, vol 103: 414-417.
258. Xavier, P., Javier, A., Susanna, A., Wood, G. A., Hopkins, A, W., And Christian B .(2015). *Cladophora Ruchingeri* (C. Agardh) Kutzing, 1845 (Cladophorales, Chlorophyta) : A New Biofouling Pest of Green-Lipped Mussel *Perna Canaliculus* Farms In New Zealand. **Aquatic Invasions**, vol 10(2): 123–133 .
259. Xhabiri, G., Sinani, V., and Hoxha, I .(2014). The impact of the wheat bran on the quality of the biscuits and their nutritional value. **Anglisticum Journal(XHABIRI) of Food Technology And Nutrition**, vol 3(3): 64–70.
260. Xu, W., Liang, L., and Zhu, M .(2015). Determination of sugars in molasses by HPLC following solid-phase extraction. **International Journal of Food Properties**, vol 18(3): 547-557.
261. Yaich, H., Ben Amira, A., Abbes, F., Bouaziz, M., Besbes, S., Richel, A., Blecker, C., Attia, H., and Garna, H .(2017). Effect of extraction procedures on structural, thermal and antioxidant properties of ulvan from *Ulva lactuca* collected in Monastir

coast, International Journal of Biological Macromolecules. **International Journal of Biological Macromolecules**, vol 141:1-37.

262.Yamamotoy, M ., Tadokoro, y. ,Ima, H., and Mita, K .(1980). physicochemical characterization of sulfated polysaccharides from green seaweed: *Ulva pertusa* and *Ulva conglobate*. **Agriclture,biological and chemstiry journal**, vol 44(4):723-729

263.Yarnpakdee, S., Benjakul, S., and Senphan, T .(2019). Antioxidant activity of the extracts from freshwater macroalgae (*Cladophora glomerata*) grown in Northern Thailand and its preventive effect against lipidoxidation of refrigerated eastern little tuna slice. **Turkish Journal of Fish and Aquatic Sciences**, vol 19(3):209–219.

264.Yin, C. Y .(2011). Prediction of higher heating values of biomass from proximate and ultimate analyses. **Fuel journal**, vol 90(3): 1128-1132.

265.Ying, Z., Han, X., and Li, J .(2011). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from mulberry leaves. **Journal of Food Chemistry**, vol.127( 3):1273-1279.

266.Yu, Y., Li, Y., Du, C., Mou,H., and Wang, P .(2016). Compositional and structural characteristics of sulfated polysaccharide from *Enteromorpha prolifera*.**Carbohydrate Polymers**, vol 2(11): 1-16.

267.Zayed, A., Muffler, K., Hahn,T., Rupp,S., Finkelmeie,D., Burger-Kentischer, A., and Ulber,R .(2016). Physicochemical and Biological Characterization of Fucoidan from *Fucus vesiculosus* Purified by Dye Affinity Chromatography. **Marien Drugs journal**, vol 14(79): 1-14.

268.Zhang, B., Wang, L., Hasan,R., and Shahbazi, A .(2014). Characterization of a native algae species *Chlamydomonas debaryana* :strain selection,bioremediation ability and lipid characterization.**Bio Resources**,vol 9(4):6130-6140.

269.Zhong, K., and Wang, Q .(2010). Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from dried longan pulp using response surface methodology.**Carbohydrate Polymers**, vol 80: 19–25.

270.Zhu, C. J., Lee, Y, K., and Chao, T. M .(1997). Effects of temperature and growth phase on lipid and biochemical composition of *Isochrysis galbana* TK1. **Journal of Apple Phycolgy**, vol 9: 451-457.

271. Zhu, T., Heo, H., J., and Row, K. H. (2010). Optimization of crude polysaccharides extraction from *Hizikia fusiformis* using response surface methodology. **Carbohydrate Polymers**, vol 82 : 106–110.
272. Zhu, S., Huang, W., Xu J., Wang, Z., Xu J., and Yuan, Z. (2014). Metabolic changes of starch and lipid triggered by nitrogen starvation in the microalga *Chlorella zofingiensis*. **Bioresource Technology**, vol 152:292-298.
273. Ziping, L., Zilin, L., Shiyu, T., Qiliang, X., Haiyan, Y., and Lingli, Y. (2011). Inquiry of water-soluble polysaccharide extraction conditions from grapefruit skin. **Engineering**, vol 3: 1090-1094.
274. Zou, Y., Chen, X., Liu, S., And Yang, W. (2011). Response surface methodology for optimization of the ultrasonic extraction of polysaccharides from *Codonopsis pilosula* Nannf. var. Modesta L.T.Shen. **Carbohydrate Polymers journal**, vol 84:503-508.
275. Zouaghi, N., Bensiradj, N.E., Cavaleiro, C., Nadjemi, B., and Telfah, A. (2021). Antimicrobial activities of natural volatiles organic compounds extracted from *Dittrichia viscosa* (L.) by hydrodistillation. **Jordan Journal of Biological Sciences**, vol 14(1):41–49.
276. Zulkifly, S.H., Graham, J., Young, E., Mayer, R., Piotrowski, M., Smith, I., and Graham, L. (2013). The genus *Cladophora* Kutzing (*Ulvophyceae*) as a globally distributed ecological engineer. **Journal of Phycology**, vol 49(10):1–17.

### Abstract

In this research, we isolated have two species from *Cladophora* algae; *C.crispata* and *C.fracta*, algae compounds were determined through of stress and bloom stage, cultivated it in lab by different medium and outdoor method. Sulfate Polysaccharides (Sps) were extracted by ultrasonic-assisted extraction methods using several solvents, with three independent variables solvent/raw material ratio: 20:1, 30:1, 40:1 ml/g; extraction temperature: 40, 60, 80°C and extraction time: 30, 75, 120. The qualitative and quantitative analyses for Sps were done. The treatments which had the highest yield were Purification by gel filtration, then we investigation from antioxidation and antibacterial properties for Sps, and we selected the Sps from acetone 70% treatment to investigate its effect on the dough rheological properties, and on the antioxidant properties of biscuits. The algae were exposed to stress during the summer season, which led to high values of carbohydrate content. It has also been proved that the BBM medium led to the preservation of the carbohydrate content within *Cladophora* algae. The highest carbohydrate content obtained within the *C.crispata* (75.23%) and *C.fracta* (74.49%) were during the summer stress period when using the ratio of 3N:1P in the case of stirring cultures when algae cultivars in open ponds method. Acetone 70% gave the highest yield of this polysaccharide (12.2-13%) using conditions (30:1 ml/g, 40 C, 120 min). It was found that the increase and decrease of the carbohydrate content was associated with the yield, while it was found that the sulfate content was associated with the yield when using low extraction temperatures. The Sps are a heteropolysaccharide based on the detection of functional groups using FT-IR analysis. The purification of the Sps gave two fractions. It was proved that the proportion of sulfate and uranic acids had the largest role responsible for the antioxidant properties of Sps. Gram-positive bacteria showed more sensitivity to the extracted Sps compared to Gram-negative bacteria. The addition purified Sps increased the extensibility of the dough, the highest value of extensibility 160 mm when adding F<sub>2</sub> to flour at 1.5%. Addition of F<sub>2</sub> was increased the anti-oxidative activity of biscuits throughout the storage period. This increase was accompanied by an increase in the percentage of Sps, the IC<sub>50</sub> value were the 0.16 g/g for the DPPH<sup>•</sup> test and 0.01 g/g for the ABTS<sup>•+</sup> test were in the treatment of F<sub>2</sub> at 1.5%.

### Key words:

*Cladophora* algae, stress and Bloom, cultivation, sulfated polysaccharides, anti-oxidation properties, antibacterial, rheology properties, biscuits.



Syrian Arab Republic  
Damascus University  
Faculty of Agriculture Engineering  
Department of Food Sciences



## **Determination of the Optimal Conditions of Polysaccharides Production from Green Algae *Cladophora sp***

**A dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the  
degree of Ph.D. in the Agriculture Engineering, Food Science Department**

**by**

**Eng. Mohanad Khaled Jasem**

### **Supervisors**

**The main supervisor**

**Pro. Abd- Alwahab Merai  
Food science Department**

**Faculty of Agriculture Engineering**

**Damascus University**

**The associate supervisor**

**Pro. Adnan Ali Nizam  
Plant Biology Department**

**Faculty of Science**

**Damascus University**

**2023**