

تأثير الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية على جودة وإطالة فترة صلاحية الخبز

رسالة مقدمة لاستكمال متطلبات الحصول على درجة الماجستير في التخصص
العام "علوم الأغذية وتغذية الإنسان" وفي التخصص الدقيق "علوم الأغذية"

إعداد:

لجين بنت فهد صالح الصيخان

الرقم الجامعي: 391200366

إشراف:

د. أحمد بن علي الحسن

أستاذ مشارك بقسم علوم الأغذية وتغذية الإنسان - كلية الزراعة والطب البيطري -

جامعة القصيم (المشرف الرئيسي)

أ.د. سحر حسن صلاح

أستاذ بقسم علوم الأغذية وتغذية الإنسان - كلية الزراعة والطب البيطري - جامعة

القصيم (المشرف المساعد)

(1444هـ - 2023م)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

تأثير الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية على جودة وإطالة فترة صلاحية الخبز

لجين بنت فهد صالح الصيخان

تقرير اللجنة:

تمت الموافقة على قبول هذه الرسالة استكمالاً لمتطلبات درجة الماجستير تخصص "علوم الأغذية" في قسم علوم الأغذية وتغذية الإنسان كلية الزراعة والطب البيطري بجامعة القصيم.

أعضاء لجنة المناقشة والحكم على الرسالة:

أعضاء اللجنة	الاسم	المرتبة العلمية	التخصص	التوقيع
المشرف الرئيس	د. أحمد بن علي الحسن	أستاذ مشارك	تعبئة وتغليف الأغذية	
المشرف المساعد	أ.د. سحر حسن صلاح	أستاذ	ميكروبيولوجيا الألبان والأغذية	
المناقش الداخلي	أ.د. محمد جاد الله السيد جاد الله	أستاذ	تقنية الحبوب ومنتجاتها	
المناقش الداخلي	د. محمد فرغلي يونس	أستاذ مشارك	علوم الألبان	
المناقش الداخلي	د. أسمهان أزهرى على محمد	أستاذ مساعد	التقنية الحيوية في الأغذية	

نوقشت هذه الرسالة بتاريخ: 1444/6/12 هـ الموافق: 2023/1/5م

إقرار:

أقر بأنني قد التزمت بضوابط جامعة القصيم، وأنظمتها، واللوائح المتعلقة بإعداد الرسائل العلمية، وقد قمت شخصيا بإعداد رسالتي؛ وذلك بما ينسجم مع الأمانة العلمية، والمعايير الأخلاقية المتعارف عليها دوليا في كتابة الرسائل العلمية والبحث العلمي. كما أقر بأن رسالتي هذه غير منقولة، أو مستتلة، أو منتحلة من رسائل، أو كتب، أو أبحاث، أو أي منشورات علمية تم نشرها، أو تخزينها في أي وسيلة إعلامية، ولم يسبق تقديمها للحصول على أي درجة علمية أخرى، وان هذه النسخة المودعة هي النسخة النهائية بعد اجراء التعديلات المطلوبة من قبل أعضاء لجنة المناقشة وعليه أتحمّل كامل المسؤولية على ذلك.

الاسم: لجين فهد الصيخان

الرقم الجامعي: 391200366

التوقيع: 

الإهداء

أهدي هذا الجهد إلى قدوتي أُمي الغالية عزي وفخري وحبّية رُوحِي، من
تعبت وبذلت لتراني وإخوتي أشداء ناجحين، أمد الله في عمرها وألبسها
ثوب الصحة والعافية وبلغها بنا عظيم المبلغ.

إلى من أشد بهم أُرزي، سندي ودرعي وشفاء رُوحِي أخواتي الأربعة وأخي
الوحيد.

إلى أفراد عائلتي جميعًا وكل من أمدني بالحب يومًا.

إلى صديقاتي وزميلاتي في الدراسة والعمل.

إلى أساتذتي وكل من أشرف على تكويني أو علمني حرفًا.

إلى وطني الحبيب المملكة العربية السعودية أدام الله أمنه وأمانه ونعمه
وخيراته.

أهدي هذا البحث

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين حمداً كثيراً طيباً مباركاً فيه أن يسر لي سبحانه تياسيره العظيمة لإكمال مشواري العلمي في دراستي العليا، فالحمد لله رب العالمين الذي شفاني بعد مرض، وشد من أزمري بعد ضعف، وألهمني الصبر والجلد والفهم والإرادة، وأتم لي بكرمه الوصول وصلى الله وسلم وبارك على النبي الأمين خاتم الأنبياء والمرسلين محمد وعلى آله وصحبه أجمعين.

وأقدم بخالص الشكر والامتنان إلى كلية الزراعة والطب البيطري ذلك الصرح التعليمي الشامخ الذي منحني شرف الانتماء إليه متمثلاً بقسم علوم الأغذية وتغذية الإنسان وعلى رأسهم رئيس القسم د. سامي عبدالله الثواب، ووكيلة الكلية في شطر الطالبات د. رغد محمد الحميد، وإلى جميع منسوبيها على ما قدموا من جهود تعليمية وإدارية لتسهيل كافة الصعوبات التي واجهت هذا البحث.

وأتوجه بشكري وتقديري وامتناني لأساتذتي الأفاضل: د. أحمد بن علي الحسن، ود. سحر حسن صلاح أحمد، من أكرماني بالإشراف على هذه الرسالة وتتبع خطوات تنفيذها وتذليل الصعوبات التي صادفتني أثناء إعدادها، وتصويبها وتعديلها وتيسير مهمتي بالوصول إلى كل ما من شأنه إثراء هذه الرسالة ونشر نتائجها، فجزاهم الله عني خير الجزاء وأسأل الله العليّ القدير أن يجعل هذا في ميزان حسناتهم، وأن ينفع بعلمهم ويطيل في أجلهم ويثيبهم عني وعن كل من يستفيد من هذه الرسالة خير الأجر والثواب مع خالص تمنياتي لهما بالتوفيق ودوام الصحة والتألق.

كما أود أن أخص بالشكر أ.د. محمد جاد الله السيد الذي لم يدخر علماً ولا وقتاً في مساعدتي ومساندتي، فقد غمرني برعايته الموصولة وتوجيهاته الثمينة كرمًا وإحساناً منه، فلا يوفيه شكري ولا امتناني جزاه الله عني عظيم الجزاء، والشكر كل الشكر لجميع أعضاء هيئة التدريس في قسم علوم الأغذية وتغذية الإنسان وبالأخص أ.د. حسن أحمد بركات، ود. زينب عبد الكريم شبيب، على ما قدموه لي من دعم ومساندة نسأل الله القدير لهم جميعاً دوام الرفعة والتوفيق وأن ينفعهم وينفع بهم ويزيدهم علماً.

وأيضاً أتقدم بالشكر الجزيل إلى أعضاء لجنة المناقشة الموقرين على تفضلهم بقبول مناقشة الرسالة. كل الشكر والتقدير لكل من ساعدني ليرى بحثي هذا النور والحمد لله أولاً وأخيراً.

الملخص العربي

Arabic Summary

الملخص العربي

تأثير الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية على جودة وإطالة فترة صلاحية الخبز

إعداد الطالبة:

لجين بنت فهد صالح الصيخان

يعد نمو الفطريات المحدثه لعفن الخبز من أهم مسببات فساد وهدر الخبز، فالخبز هو ثاني أكثر المنتجات الغذائية هدرًا في المملكة العربية السعودية بخسائر اقتصادية تقارب 760 مليون ريال سعودي سنويًا. بالإضافة إلى الخسائر الاقتصادية الناتجة عن ظهور العفن فإن إنتاجه للسموم الفطرية يجعل منه مصدر قلق، لما تسببه هذه السموم من مشاكل صحية للإنسان والحيوان. اكتشاف الكيتوزان من المصادر الفطرية فتح الأفق للعديد من الأبحاث والتطبيقات، فبالإضافة لاستخدامه في الصناعات الغذائية كمادة حافظة طبيعية إلا أنه لم يتم دراسة تأثيره على فترة صلاحية الخبز من قبل، محدثًا بذلك فجوة بحثية، سعت هذه الدراسة لمثلها.

لذلك كان الهدف من إجراء هذا البحث هو دراسة إمكانية إضافة نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري (0.5، 1.0 و 1.5%) كمادة حافظة طبيعية ذات دور وظيفي لعينات الخبز الإفرنجي (خبز القوالب) مع المقارنة ببعض المواد الحافظة الكيميائية الشائع استخدامها لحفظ الخبز مثل بروبيونات الكالسيوم وحمض الأسكوربيك. مع دراسة تأثير الكيتوزان الفطري على الصفات الطبيعية للخبز، والقبول الحسي، ولون القشرة واللابة، والمحتوى الرطوبي، والنشاط المائي، والقوام، والمحتوى الميكروبي، ومدى ظهور العفن الطبيعي لخبز القوالب خلال تخزينه في درجة حرارة الغرفة ($22 \pm 3^\circ\text{C}$) لمدة تصل إلى 7 أيام .

أظهرت النتائج أن إضافة الكيتوزان الفطري أدت إلى انخفاض معنوي في الحجم والحجم النوعي للخبز المضاف إليه الكيتوزان مقارنة بالعينة الضابطة، بينما لم يكن للكيتوزان الفطري تأثير معنوي على وزن الخبز الناتج.

يتضح من نتائج التقييم الحسي أن إضافة الكيتوزان الفطري بنسب مختلفة (0.5، و 1.0، و 1.5%) ليس له تأثير معنوي على الصفات الحسية والقبول العام لخبز القوالب، فيما عدا لون القشرة الخارجية والتي تصبح داكنة اللون مع زيادة النسبة المضافة من الكيتوزان الفطري، كما تبين

النتائج أن العينة الضابطة كانت الأفضل في القبول الحسي بمجموع نقاط تقييم حسي وصلت إلى (49.81)، ثم تبعتها العينة المضاف لها كيتوزان بالنسبة 1% والتي كانت الأعلى بين معاملات الكيتوزان الفطري بمجموع نقاط تقييم (49.14).

بينت نتائج اللون في لبابة عينات الخبز المضاف لها نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري أن قيم اللعان (L) كانت الأعلى في عينة الخبز الضابطة (76.32) ويلى ذلك عينة خبز الكيتوزان (0.5%) بالقيمة (73.14)، أما بالنسبة (a) درجة الاحمرار فلم يكن لإضافة الكيتوزان بالنسبة 0.5% تأثير معنوي وازداد احمرار اللبابة قليلاً بزيادة نسبة الكيتوزان، ولم يكن لإضافة الكيتوزان بالنسب 0.5، 1% تأثير على درجة الاصفرار (b) في اللبابة. بينما يتضح في نتائج اللون للقشرة انخفاض قيم (L) بزيادة نسبة الكيتوزان المضافة ولم يكن لإضافة الكيتوزان بالنسبة 0.5% تأثير معنوي، وبالنسبة لقيم اللون (a) و (b) فلم تظهر إضافة الكيتوزان بالنسب 0.5، 1% تأثير معنوي مقارنة بالضابطة.

أظهرت النتائج حدوث انخفاض في معدل فقد رطوبة عينات الخبز كلما زادت نسبة الكيتوزان المضافة وذلك حتى اليوم الخامس من التخزين في الجو العادي، فقد لوحظ في اليوم الخامس وجود فرق معنوي بين الكيتوزان بالنسب (1، 1.5%) بقيمة (35.88، 35.53%) وبين العينة الضابطة وكيتوزان 0.5% (34.57، 34.72%) على التوالي، وبالتالي قد يؤدي ذلك إلى تأخير حدوث التجلد.

قيم النشاط المائي كانت الأعلى في خبز العينة الضابطة مقارنة بالخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري في بداية التخزين، وبزيادة فترة التخزين ينخفض النشاط المائي في خبز العينة الضابطة بشكل ملحوظ، بينما كان انخفاض النشاط المائي للخبز مع إضافة كيتوزان أقل. ازدادت الصلابة في اليوم الأول بزيادة نسبة الكيتوزان الفطري المضافة، لكن لم يظهر أن هذه الزيادة أثرت على التقييم الحسي للقوام، مع امتداد فترة التخزين تزايدت الصلابة في العينة الضابطة للخبز بشكل أكبر، بينما كانت درجة التغيير في الصلابة أقل عند إضافة الكيتوزان الفطري، ولم تسجل أي فروق معنوية بين العينة الضابطة ومعاملات الكيتوزان (0.5، 1%) في اليوم الخامس من التخزين.

بينت نتائج التحليل الميكروبيولوجي لعينات الخبز أن التأثير الحافظ للكيوتوزان كان الأفضل باستخدام التركيزات 1، 1.5% كيتوزان فطري، فلم يظهر أي نمو للمستعرات خلال مدة التخزين الممتدة إلى خمسة أيام.

أظهرت إضافة الكيتوزان الفطري بجميع النسب 0.5، 1 و 1.5% وإضافة بروبيونات الكالسيوم تأثير مثبت لنمو العفن الطبيعي على حد سواء، ولم يتم رصد ظهور أي نمو للعفن طوال فترة الملاحظة والممتدة إلى 7 أيام في الجو العادي.

وبذلك تستنتج هذه الدراسة إمكانية إعداد خبز مضاف إليه نسبة تصل إلى 1% من الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية دون إخلال في صفات الجودة والقبول الحسي للخبز، وبذلك يمكن أن يكون تطبيقًا ناجحًا في صناعة المخبوزات والخبز تحديداً، وإحلاله بدلاً من المواد الحافظة الصناعية.

الفهرس

رقم الصفحة	فهرس المحتويات	التسلسل
أ	الإهداء	-1
ب	شكر وتقدير	-2
د	الملخص العربي	-3
ز	فهرس الرسالة	-4
ي	قائمة الجداول	-5
ك	قائمة الأشكال	-6
ل	قائمة الاختصارات	-7
الباب الأول:		
1	المقدمة	1-1
5	مشكلة الدراسة	2-1
7	أهداف الدراسة	3-1
الباب الثاني: الدراسات السابقة		
9	الهدر والفقء الغءائي وخصوصاً هءر الخبز	1-2
10	الفساء الميكروبي في الخبز	2-2
11	مصادر تلوء الخبز بالكائنات الحية الءقيقة	1-2-2
12	الفساء الفطري في الخبز	2-2-2
14	الفساء البكتيري في الخبز	3-2-2
15	فساء الخمائر في الخبز	4-2-2
16	التحكم في الفساء الميكروبي في صناعة الخبز	3-2
16	التعبئة في عبوات معدلة هوائياً	1-3-2
16	التشعيع	2-3-2
17	المواد الحافظة الصناعية (الكيميائية)	3-3-2
18	المواد الحافظة الطبيعية في صناعة الخبز	4-3-2
19	الكيتوزان	4-2

19	الكيتين والكيتوزان	1-4-2
20	تركيب الكيتين والكيتوزان	2-4-2
21	الكيتين والكيتوزان الفطري	3-4-2
21	أهمية المصادر الفطرية للكيتوزان	4-4-2
22	خواص الكيتوزان	5-4-2
23	النشاط البيولوجي للكيتوزان في جسم الإنسان	6-4-2
24	نشاط الكيتوزان المضاد للأحياء الدقيقة	7-4-2
24	آليات نشاط الكيتوزان المضاد للبكتيريا	1-7-4-2
25	آلية نشاط الكيتوزان المضاد للفطريات	2-7-4-2
26	العوامل المؤثرة على نشاط الكيتوزان المضاد للميكروبات	3-7-4-2
27	تطبيقات الكيتوزان في الغذاء	5-2
28	تطبيقات الكيتوزان في الخبز	1-5-2
الباب الثالث: المواد والطرق		
34	المواد	1-3
34	الطرق	2-3
34	تحضير محاليل الكيتوزان الفطري	1-2-3
35	إعداد عينات خبز القوالب المختلفة	2-2-3
37	تقدير الصفات الطبيعية لعينات خبز القوالب	3-2-3
37	التقييم الحسي لعينات خبز القوالب	4-2-3
38	تقدير اللون لعينات خبز القوالب	5-2-3
39	تقدير المحتوى الرطوبي لعينات خبز القوالب	6-2-3
39	تقدير النشاط المائي لعينات خبز القوالب	7-2-3
40	تحليل القوام لعينات خبز القوالب	8-2-3
41	التحليل الميكروبيولوجي لعينات خبز القوالب	9-2-3
41	تحضير التخفيفات	1-9-2-3
41	عد الخمائر والفطريات	2-9-2-3

41	عد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم	3-9-2-3
41	العد الكلي للبكتيريا	4-9-2-3
42	الفحص البصري لعينات خبز القوالب	10-2-3
42	التحليل الإحصائي	11-2-3
الباب الرابع: النتائج والمناقشات		
44	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على الصفات الطبيعية لخبز القوالب	1-4
49	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على التقييم الحسي لخبز القوالب	2-4
53	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على لون عينات خبز القوالب	3-4
59	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على المحتوى الرطوبي لخبز القوالب	4-4
62	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على النشاط المائي لخبز القوالب	5-4
64	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري بنسب مختلفة على القوام في خبز القوالب	6-4
67	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على الجودة الميكروبيولوجية لعينات خبز القوالب	7-4
67	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على أعداد الخمائر والفطريات في عينات خبز القوالب	1-7-4
68	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم في عينات خبز القوالب	2-7-4
71	تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على العد الكلي للبكتيريا في عينات خبز القوالب	2-7-4
74	الفحص البصري لعينات خبز القوالب المضاف له نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري	8-4
الباب الخامس: الاستنتاجات والتوصيات		
78	الاستنتاجات	اولاً
80	التوصيات	ثانياً
الباب السادس: المراجع		
82	المراجع العربية.	1-6
83	المراجع الاجنبية.	2-6
96	الملخص بالإنجليزية.	3-6

قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
17	أكثر المواد الحافظة الكيميائية شيوعاً في صناعة الخبز والمعتمدة من الاتحاد الأوروبي EU	الجدول (1)
19	مشتقات الكيتين والكيروزان	الجدول (2)
22	مقارنة بين الكيتين والكيروزان المستخرجان من مصادر قشرية ومصادر فطرية	الجدول (3)
36	المكونات الأساسية في تحضير معاملات خبز القوالب	الجدول (4)
37	استمارة التقييم الحسي لعينات الخبز المحتوية على نسب مختلفة من الكيروزان الفطري	الجدول (5)
46	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على الصفات الطبيعية لخبز القوالب	الجدول (6)
51	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على التقييم الحسي لعينات خبز القوالب	الجدول (7)
56	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على لون عينات خبز القوالب	الجدول (8)
60	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على المحتوى الرطوبي لخبز القوالب	الجدول (9)
63	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على النشاط المائي لخبز القوالب	الجدول (10)
65	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على القوام (Firmness) لعينات خبز القوالب	الجدول (11)
67	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على أعداد الخمائر والفطريات ($\log \text{cfu/g}$) في عينات خبز القوالب	الجدول (12)
70	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم ($\log \text{cfu/g}$) في عينات خبز القوالب	الجدول (13)
72	تأثير إضافة الكيروزان الفطري على العدد الكلي للبكتيريا ($\log \text{cfu/g}$) لعينات خبز القوالب	الجدول (14)
75	نتائج الكشف البصري عن ظهور العفن في عينات خبز القوالب المضاف لها نسب مختلفة من الكيروزان.	الجدول (15)

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
12	صورة توضح ظهور فساد العفن على شريحة الخبز.	الشكل (1)
15	صورة توضح ظهور فساد الخيوط عند تقطيع رغيف الخبز من المنتصف	الشكل (2)
20	التركيب الكيميائي للكيتين والكيتوزان	الشكل (3)
35	صور أثناء تحضير محاليل الكيتوزان الفطري. (1) مسحوق الكيتوزان الفطري، (2) محاليل الكيتوزان بعد تمام ذوبانها	الشكل (4)
36	صور بعض مراحل تصنيع الخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (5)
38	جهاز تقدير اللون لعينات الخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (6)
39	الفرن المستعمل في تقدير المحتوى الرطوبي لعينات الخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (7)
40	الجهاز المستعمل في تقدير النشاط المائي لعينات الخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (8)
46	قيم الوزن (جم) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (9)
47	قيم الحجم (سم ³) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (10)
47	قيم الحجم النوعي (سم ³ /جم) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (11)
48	قيم الفقد في الوزن أثناء الخبز (%) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (12)
50	صورة توضح لون القشرة لأرغفة خبز القوالب المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (13)
52	نتائج التقييم الحسي لعينات للخبز المضاف لها نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري	الشكل (14)
57	درجة اللمعان (Lightness) في عينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (15)
57	درجة الاحمرار (Redness) في عينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (16)
58	درجة الاصفرار (Yellowness) في عينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (17)
61	نتائج محتوى الرطوبة (%) لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (18)
61	قيم معدل الفقد في الرطوبة (%) لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (19)
63	نتائج النشاط المائي لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (20)
66	نتائج القوام (جم) Firmness لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري	الشكل (21)
70	أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم (log cfu/g) لعينات الخبز تحت الدراسة	الشكل (22)
73	العد الكلي للبكتيريا (log cfu/g) لعينات الخبز تحت الدراسة	الشكل (23)
76	صور لشرائح الخبز بعد التخزين على درجة حرارة الغرفة لمدة سبعة أيام	الشكل (24)

قائمة الاختصارات

المختصر بالعربي	الاختصار	المختصر بالإنجليزي
معترف بها عمومًا أنها آمنة	GRAS	Generally Recognized as Safe
برنامج عمل النفايات والموارد	WRAP	Waste and Resources Action Programme
التعبئة في عبوات معدلة هوائيًا	MAP	Modified atmosphere packaging
الأس الهيدروجيني	pH	Potential Hydrogen
الوزن الجزيئي	MW	Molecular weight
وزن جزيئي منخفض	LMW	Low Molecular weight
وزن جزيئي متوسط	MMW	Medium Molecular weight
وزن جزيئي مرتفع	HMW	High Molecular weight
درجة نزع الأسيتيل	DD	Degree of deacetylation
كيلو دالتون	KDa	Kilodalton
أوليغوسكريدات الكيتوزان	COS	Chitosan oligosaccharide
درجة اللمعان (اللون الأبيض إلى الأسود)	L*	Lightness (white to black)
درجة الاحمرار (اللون الأحمر إلى الأخضر)	a*	Redness (red to green)
درجة الاصفرار (اللون الأصفر إلى الأزرق)	b*	Yellowness (yellow to blue)
النشاط المائي	a _w	Water activity

الباب الأول

المقدمة

Introduction

1- المقدمة

يعتبر الخبز أحد أكثر المنتجات الغذائية استهلاكًا حول العالم حيث يقدر إنتاجه عالميًا بحوالي 100 مليون طن سنويًا، وفي نفس الوقت فإن الخبز يعتبر من أكثر المخلفات الغذائية على مستوى العالم نتيجة التلف والفساد، محدثًا بذلك خسارة اقتصادية كبيرة، فمخلفات الخبز تعد مكونًا رئيسيًا في مشكلة هدر الغذاء (Melikoglu and Webb, 2013). قدرت المؤسسة العامة للحبوب في المملكة العربية السعودية أن كمية الخبز المهذرة تقدر 764 ألف طن سنويًا، هذا ما يعادل حوالي 25% من إجمالي الأغذية المفقودة والمهذرة على مستوى المملكة، كذلك قُدرت مساهمة الفرد بهدر الخبز بمقدار 23 كجم/سنة، هذه الخسائر الاقتصادية تقارب نحو 760 مليون ريال سعودي سنويًا ناتجة عن المهدر من الخبز فقط (المؤسسة العامة للحبوب، 2019).

يعد الخبز منتج ذو فترة صلاحية قصيرة نتيجة لتجلد الخبز، والفساد الميكروبي. وعليه فإن تقبل المستهلكين للخبز المتجلد منخفض؛ نظرًا لانخفاض الجودة الحسية (Gray and Bemiller, 2003)، إلا أن الخبز المتجلد لا يزال صالحًا للاستهلاك البشري، على العكس من الفساد الميكروبي والذي يجعل الخبز غير صالح للاستهلاك البشري. يعتبر نمو الفطريات من أهم العوامل المؤدية لفساد منتجات المخازن خاصة الخبز، يحدث هذا غالبًا بسبب نمو أنواع معينة من الفطريات مثل: *Aspergillus*، و *Fusarium*، و *Penicillium*. بالإضافة إلى الخسائر الاقتصادية غير المحدودة الناتجة عن ظهور العفن فإن السموم الفطرية الناتجة عنه تؤدي إلى مشاكل صحية، وهذا ما يجعل العفن مصدر قلق للإنسان (Legan, 1993). يعتبر الفساد البكتيري للخبز والمخبوزات أقل شيوعًا من الفساد الفطري، إلا أنه لا يزال يسبب مشاكل في الظروف ذات درجات الحرارة الدافئة. عادة ما يأخذ الفساد البكتيري شكل ما يسمى بالخيوط، والذي ينتج عن نمو أنواع بكتيريا *Bacillus*. بينما نمو الخمائر يعد السبب الأقل شيوعًا لفساد الخبز بالأحياء الدقيقة (Jago and Jago, 1991).

يحدث العفن في الخبز غالبًا بسبب تلوث ما بعد الإنتاج، وبالتالي فإن استخدام المواد الحافظة هي الاستراتيجية الأكثر شيوعًا والتي تتبناها صناعة الخبز (Legan, 1993). تلعب المواد الحافظة الصناعية دورًا هامًا في حفظ الغذاء وحمايته من الفساد، وكذلك منع نمو الأحياء الدقيقة الممرضة والمسببة للفساد، إلا أنه يعاب عليها الآثار الثانوية الناتجة عنها والضارة بالصحة. تعمل صناعة الخبز على تقليل عدد المضافات والمواد الحافظة الصناعية المضافة للخبز، وذلك لإنتاج خبز طبيعي وصحي قدر الإمكان (Axel et al., 2017).

من هذا المنطلق فقد اقترح استخدام الكيتوزان كمادة طبيعية حافظة للأغذية وذات خواص وظيفية، فالكيتوزان بوليمر حيوي طبيعي أثبت فاعليته في تأخير ظهور العفن على الخبز، كذلك من فوائد إضافته للمخبوزات الجمع بين دوره كمادة حافظة مضادة للأحياء الدقيقة مع دوره الوظيفي المفيد والمعزز للصحة. حيث أن الأغذية المدعمة مناسبة جدًا للعمل كناقلات للمكونات ذات الأهمية الغذائية والعلاجية، تم تدعيم الخبز بالعديد من المكونات الوظيفية من أجل زيادة القيمة الغذائية أو لتحسين قبول المستهلكين للمنتج، كذلك فإنه قد تم بالفعل تصنيع خبز مضاف له الكيتوزان وتقييم تأثيراته كمضاد للأكسدة، وخافض للكوليسترول الضار LDL (Ausar et al., 2003; Kerch et al., 2008; Lee et al., 2002b).

تجاريًا اعتمد على الكيتين والكيتوزان المستخرجان من مخلفات قشور الجمبري وسرطان البحر لفترة طويلة. ولكن اكتشاف بوليمرات الكيتين والكيتوزان في جدران الخلايا الفطرية فتح الأفق لمزيد من الأبحاث والتطبيقات بسبب كون الكيتوزان الفطري آمن صحياً وخالي من المواد المسببة للحساسية، كذلك سيخفض من التكاليف والمخلفات الناتجة عن استخلاصه من مخلفات قشور الجمبري (Chien et al., 2016; Batista et al., 2022). أيضاً قد تختلف منتجات الكيتين والكيتوزان القشرية في الخصائص الفيزيائية والكيميائية، بينما الكيتين والكيتوزان الفطري لهما خصائص متسقة نسبياً؛ ذلك بسبب ظروف إنتاج الفطر، علاوة على ذلك فإن المواد الخام المستخدمة لاستخراج الكيتوزان الفطري تعد مخلفات مستمرة غير محدودة بقيود جغرافية

أو موسمية (Abo Elsoud and El Kady, 2019).

يعتبر الفطر *Aspergillus niger* هو أحد مصادر الكيتوزان الفطري، حيث ذكر أن 42% من مكونات جدار الخلية عبارة عن الكيتين (Knorr, 1991; Pochanavanich and Suntornsuk, 2002)، ففي حين أن إنتاج حامض الستريك من فطر *Aspergillus niger* يخلف ما يقارب 80,000 طن من المخلفات الفطرية سنويًا (Ali et al., 2002)، فإن هذه المخلفات الفطرية تكون مصدرًا طبيعيًا متاحًا للكيتين والكيتوزان. في عام 2011 أعترف بالكيتوزان المستخلص من الفطر *Aspergillus niger* بأنه آمن عمومًا (GRAS) لاستعماله كمضاف غذائي ثانوي بموجب اللائحة الصادرة عن إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA, 2011).

لهذا فإن إحلال الكيتوزان الفطري بديلاً عن سابقه المستخلص من القشريات يحدث فجوة بحثية، حيث أن نتائج الابحاث التي تعنى بتأثيرات الكيتوزان على الأغذية تظهر تباينًا طفيفًا، وقد يعزى هذا التباين إلى: الاختلافات في خواص الكيتوزان المستخدم نفسه، ونوعية الغذاء المضاف له، وآلية تطبيق الكيتوزان (Hu and Gänzle, 2018). لذلك لا يمكن تعميم النتائج المدروسة سابقًا كما لو كانت ناتجة عن تأثير الكيتوزان الفطري، وعليه هدفت هذه الدراسة لامكانية استعمال الكيتوزان الفطري كبديل عن الكيتوزان المستخلص من القشريات، وإضافته كمادة حافظة طبيعية للخبز كبديل عن المواد الحافظة الصناعية.

مشكلة الدراسة

Study's problem

مشكلة الدراسة

يفقد العالم ويهدر ثلث الإنتاج الغذائي بخسائر اقتصادية تقارب 1 تريليون دولار سنويًا (FAO, 2015). في آخر مسح ميداني أجرته المؤسسة العامة للحبوب في المملكة العربية السعودية قُدر الخبز كثاني أكثر المنتجات الغذائية هدرًا بما يعادل 764 ألف طن /سنة، محدثًا بذلك خسائر اقتصادية تقارب 760 مليون ريال سنويًا (المؤسسة العامة للحبوب، 2019). يعتبر الخبز منتج ذو فترة صلاحية قصيرة، وذلك بسبب لسرعة تجلده وفساده الميكروبي، حيث يعتبر نمو الفطريات من أهم أسباب الفساد الميكروبي للخبز، فبالإضافة للخسائر الاقتصادية غير المحدودة الناتجة عن نموها، فإن افرازها للسموم الفطرية يجعل منها مصدر قلق، وذلك لما تسببه من مشاكل صحية للإنسان والحيوان. قُدم الكيتوزان القشري كحل في عدد من الدراسات كونه سيطيل فترة صلاحية الخبز كعامل مضاد للأحياء الدقيقة، ويجعل من الخبز منتجًا وظيفيًا في نفس الوقت. إلا أن تأثير الكيتوزان اختلف تبعًا لخواصه وآلية تطبيقه، كذلك لم تجرى أبحاث سابقة كافية لدراسة إمكانية إطالة فترة صلاحية الخبز بإضافة الكيتوزان الفطري بشكل ناجح ومقبول لدى المستهلكين، محدثًا بذلك فجوة بحثية هدفت هذه الدراسة لملئها. وعليه نشأت فكرة هذه الدراسة لتقييم تأثير الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية مضادة للأحياء الدقيقة على إطالة فترة صلاحية الخبز وتأخير ظهور العفن مع الاحتفاظ بصفات الجودة والقبول الحسي لخبز القوالب.

أهداف الدراسة

Aim of the study

أهداف الدراسة

تهدف الدراسة إلى:

- ١- دراسة تأثير مسحوق الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية على إطالة فترة صلاحية خبز القوالب مقارنة بالمادة الحافظة الصناعية.
- ٢- دراسة تأثير إضافة نسب مختلفة من مسحوق الكيتوزان الفطري على صفات الجودة الفيزيوكيميائية والميكروبية والقبول الحسي لخبز القوالب.

الباب الثاني

الدراسات السابقة

Review of Literature

2- الدراسات السابقة

1-2 الهدر والفقد الغذائي وخصوصاً هدر الخبز:

يُفقد الغذاء أو يُهدر خلال كل مرحلة من مراحل سلسلة الامداد والتصنيع الغذائي، بدايةً من المواد الخام الأولية وحتى بعد أن يصبح منتج نهائي في يد المستهلك. وهذا ما يضع العالم أمام مشكلة حقيقة بسبب فقد وهدر أطنان من الأغذية الصالحة للأكل كل عام. في السلسلة الغذائية وتحديدًا في المراحل ما بين الحصاد وتجارة التجزئة، يفقد حوالي 14% من إجمالي الأغذية حول العالم سنويًا (FAO, 2019). أيضًا ما يقارب 17% من إجمالي الإنتاج الغذائي العالمي يُهدر خلال مراحل البيع بالتجزئة والخدمات الغذائية والاستهلاك (UNEP, 2021). وبذلك فإن كمية إجمالي الفقد والهدر الغذائي قد تصل إلى 1.3 مليار طن، هذا ما يعادل 32% من الإنتاج الغذائي العالمي سنويًا (FAO, 2017).

يختلف حجم ومصدر الفقد والهدر الغذائي باختلاف المناطق حول العالم. فمثلاً يبلغ الفاقد والمهدر الغذائي في الولايات المتحدة حوالي 61 مليون طن /سنة، بينما في الصين فقد قدر بحوالي 92.4 مليون طن /سنة، وبالنسبة للاتحاد الأوروبي فقدّر بما يعادل 90 مليون طن /سنة، و4 ملايين طن /سنة في أستراليا. أما في المملكة العربية السعودية فقد قدرت المؤسسة العامة للحبوب آخر مسح ميداني أجرته إجمالي الفقد والهدر الغذائي بما يساوي 4.066 مليون طن /سنة (Giroto et al., 2015; المؤسسة العامة للحبوب, 2019).

وفقًا للمسح الميداني للمؤسسة العامة للحبوب فإن خسائر الخبز تقع تحت مسمى هدر الغذاء وليس الفقد، لتوضيح ذلك فإن تعريف "فقد الغذاء" و"هدر الغذاء" كانت موضوع نقاش بين المختصين، ولكن استنادًا على تعريفات منظمة الأمم المتحدة للأغذية والزراعة (FAO) فإن مصطلح هدر الغذاء (Food waste) يشير إلى: "انخفاض كمية أو جودة الأغذية الناتجة عن القرارات والإجراءات التي يتخذها تجار التجزئة ومقدمو خدمات الأغذية والمستهلكون". وعليه فقد سجل مسح المؤسسة خسائر الخبز كهدر وأما الفقد فقد سُجل على أساس الحبوب فقط (FAO, 2022; المؤسسة العامة للحبوب, 2019).

تشكل مخلفات الخبز جزءًا كبيرًا من مخلفات الغذاء حول العالم. فقد قدر برنامج عمل النفايات والموارد (WRAP) أن مخلفات الخبز تمثل 10% من جميع المخلفات الغذائية الناتجة

في المملكة المتحدة (WRAP, 2011). أما في المملكة العربية السعودية فقد سُجل إجمالي الهدر الغذائي لعام 2019 بما يعادل 2.330 مليون طن /سنة، وبلغت كمية الخبز المهذرة 764 ألف طن من إجمال الكمية المهذرة الكلية للغذاء. وبذلك سُجل الخبز كثاني أكثر المنتجات الغذائية هدرًا على مستوى المملكة العربية السعودية بخسائر اقتصادية تقارب 760 مليون ريال /سنة (المؤسسة العامة للحبوب, 2019).

يعود ذلك لكون الخبز منتج غذائي ذو فترة صلاحية محدودة (3-5 أيام) وخصائص حسية سريعة التدهور. يحد من هذه الفترة حدوث الفساد الميكروبي، أو فقدان الرطوبة، أو تجلد الخبز. يتجلد الخبز بفعل تغيرات كيميائية وفيزيائية، كحدوث فقدان الرطوبة، وبلورة النشا، وزيادة الصلابة، وفقدان الرائحة والنكهة. عادةً ما تبدأ هذه التغيرات بعد عملية الخبز مباشرة مؤدية بذلك لانخفاض تقبل المستهلكين للخبز (Gray and Bemiller, 2003)، إلا أن الخبز بعد تجلده لا يزال صالحًا للاستهلاك، ويمكن إعادة تدويره. على العكس من الفساد الميكروبي والذي يجعل الخبز غير صالح للاستهلاك ويجب التخلص منه. لذلك يعد الفساد الميكروبي هو المسبب الرئيسي للخسائر الاقتصادية في صناعة الخبز ومنتجات المخازن (Ooraikul, 1991).

2-2 الفساد الميكروبي في الخبز:

تعد جودة وسلامة منتجات المخازن مصدر إهتمام كبير لمنتجي المخبوزات وسلطات مراقبة الجودة ومستهلكي المنتج النهائي. ففساد المخبوزات قد يكلف هذه الصناعة خسائر اقتصادية تقدر بمليارات الدولارات بسبب الآثار الصحية الضارة المكلفة، وانخفاض الإنتاجية، والتكاليف الطبية، والدعاية السلبية لصناعة منتجات المخازن. وفي حالة التجارة الدولية هناك تكاليف إضافية تشمل تكاليف الرفض، واحتجاز المنتجات، وعمليات الاسترجاع، وما ينتج عن ذلك من دعاية سلبية للصناعة والدولة المصنعة. فمن المعروف أن معظم المنتجات المخبوزة الطازجة محدودة بفترة صلاحية تمتد لبضعة أيام أثناء التخزين على درجة حرارة الغرفة، فهي معرضة للفساد الفيزيائي والكيميائي والميكروبيولوجي، هذا ما يؤثر على الطعم والرائحة والمظهر والجودة الإجمالية للمنتج النهائي (Sperber and Doyle, 2009).

العفن هو أكبر مسبب للفساد الميكروبي في منتجات المخازن، حيث أن نموه يحد من فترة الصلاحية بشكل كبير، وتحديدًا في الخبز الذي يتعفن عادةً في غضون 5-7 أيام عند تخزينه على درجة حرارة الغرفة، ما لم تتبع التدابير اللازمة. تعتبر الخميرة سببًا أقل شيوعًا للفساد ولكن نمو كلاهما يتسبب في فساد ظاهر على السطح (Sperber and Doyle, 2009). أخيرًا تعتبر البكتريا الهوائية من جنس *Bacillus* المسبب الرئيسي للفساد البكتيري بالخبز، حيث أن لها القدرة على تكوين الجراثيم، والتي تبقى حية بسهولة خلال عملية الخبز (Pateras, 1999). توجد الكائنات الحية الدقيقة في كل مكان بطبيعتها والعديد منها يسبب فساد للأغذية ونقل الأمراض للإنسان عن طريق الغذاء. في حين أنه من النادر لمنتجات الخبز أن تسبب التسمم الغذائي مقارنة بأنواع الأغذية الأخرى (Sperber and Doyle, 2009).

2-2-1 مصادر تلوث الخبز بالكائنات الحية الدقيقة:

يحدث التلوث بالكائنات الحية الدقيقة بمجرد بدء عملية إنتاج الخبز. فالمواد الخام المستعملة في إنتاج الخبز معرضة للتلوث بمجموعة واسعة من الميكروبات سواءً في الحقل أو أثناء التخزين. يمكن أن يؤثر نمو الفطريات بالحبوب على التركيب الغذائي، فينتج عنه حمولة عالية من الجراثيم الفطرية في الدقيق، ويؤدي كذلك إلى التلوث بالسموم الفطرية (Garcia et al., 2019). يحدث التلوث الميكروبي في منتجات المخازن بفعل عدة عوامل: نوع المنتج (خبز، مخبوزات حلوة)، المكونات (نوع الدقيق، المكونات الجافة الأخرى)، المادة الرافعة (مواد كيميائية، خميرة الخباز، العجين المخمر)، سعة وتصميم المخبز، وتعبئة المنتجات (التبريد، التقطيع إلى شرائح، التغليف، ونوع المواد المستخدمة في التغليف)، أيضًا فإن تغليف منتجات المخازن دافئة بعد الخبز يؤدي إلى تكثيف البخار على العبوة الداخلية وعلى سطح المنتج، هذا ما يعزز من نمو الفطريات والخميرة (Legan, 1993).

وعليه فإن عدم الالتزام بتدابير الرقابة الصحية في المنشآت الغذائية يساهم بشكل كبير بفساد المنتج النهائي بشكل أسرع. يكاد يكون من المستحيل منع دخول الميكروبات إلى المنشآت الغذائية، لذلك يتم تطبيق بعض الاستراتيجيات بهدف التحكم بها وتقليل وجودها، كالتدابير الفيزيائية أو الكيميائية (Oliveira et al., 2014)، وبالتالي تحسين فترة صلاحية الخبز.

2-2-2 الفساد الفطري في الخبز:

ينتج عن الفساد الفطري للخبز ما يسمى بالعفن، والعفن مصطلح يستخدم لوصف الفساد الذي يحدث في المواد العضوية الرطبة أو المتحللة، والنتاج عن نمو الفطريات. ولكون الفطريات كائنات تفتقر إلى اليخضور (الكلوروفيل)؛ فهي غير قادرة على تصنيع غذائها بطريقة ذاتية، وبالتالي فهي تتغذى بالتطفل عن طريق امتصاص الغذاء من مصادر أخرى (Moore et al., 2011). وكون الخبز منتج ذو محتوى رطوبي عالي حوالي (40-45%) ونشاط مائي حوالي (0.94-0.97)؛ فهو معرض للإصابة بأنواع مختلفة من الفطريات، هذا ما يؤدي لقصر فترة صلاحية الخبز ما لم تتبع التدابير اللازمة (Legan, 1993).

Penicillium spp. هي من أكثر الفطريات المفسدة للخبز شيوعاً (Legan, 1993)، إلا أن هنالك مجموعة واسعة من الفطريات الأخرى التي تسبب الفساد لخبز القمح، مثل: *Aspergillus*، *Cladosporium*، *Mucorales*، و *Neurospora*، و *Fusarium*، *Monilia*، و *Endomyces*، و *Rhizopus*. يظهر فساد عفن الخبز على شكل مستعمرات بيضاء خيطية أو ضبابية أولاً، ثم تتلون تدريجياً بألوان مختلفة من الأزرق المخضر إلى الأسود مع تكون الجراثيم، كما يظهر الشكل رقم (1) (Sperber and Doyle, 2009). عادة ما يصبح الخبز الغير محتوي على مواد حافظة متعفنًا في غضون 3-7 أيام (Legan, 1993).



شكل (1): صورة توضح ظهور فساد العفن على شريحة الخبز.

تلعب ظروف التخزين دورًا مهمًا في سيادة نمو نوع فطر على آخر، على سبيل المثال *Aspergillus spp.* هي نوع العفن السائد المسبب لفساد الخبز في الهند، بينما شكلت *Penicillium spp.* 90% من الأعفان المعزولة لمجموعة متنوعة من الخبز في إيرلندا الشمالية، أما بالنسبة للمملكة العربية السعودية فقد وجد أن *Penicillium spp.* تشكل 82% من عينات العفن المعزولة للخبز المخزن على درجة حرارة 4 °م، و42% من العفن للخبز المخزن في درجة حرارة الغرفة من 22-24 °م (Jago and Jago, 1991; Legan, 1993).

درجات حرارة الخبز المرتفعة كافية للقضاء على التلوث السابق لعجينة الخبز، وبالتالي تلوث الخبز بالعفن يحدث بعد عملية الخبز، أي أثناء عمليات التبريد أو التقطيع أو التغليف. وقد اقترح legan (1993) أن العفن الموجود على الخبز ناتج بشكل أساسي من جراثيم الفطر التي تم دخولها إلى المخبز من الخارج مع الهواء أو مع المكونات الجافة أو مع المنتجات التالفة. حيث أن الدقيق يحتوي على أعداد كبيرة من جراثيم الفطريات والمكونات الجافة الأخرى أيضًا، وعليه فإن بدء عملية تصنيع الخبز تؤدي إلى انتشار غبار الدقيق على نطاق واسع في جميع أنحاء المخبز، وبالتالي زيادة عدد جراثيم الفطر المحمولة في الهواء بشكل كبير، خصوصًا في حالة المخازن الصغيرة حيث يكون فصل العمليات المختلفة أكثر صعوبة من المخازن الكبيرة. إذًا فمن المرجح أن تلوث الخبز يحدث بفعل انتشار الغبار وجراثيم الفطر في هواء المخبز.

بالإضافة للخسائر الناتجة عن فساد الخبز بفعل العفن، هنالك مخاطر على الصحة العامة ناتجة عن بعض أنواع الفطريات، وذلك بسبب قدرتها على إنتاج السموم الفطرية. يحدث التعرض للسموم الفطرية إما كنتيجة مباشرة لأكل الخبز الفاسد بواسطة العفن الفطري، أو بشكل غير مباشر عن طريق استهلاك منتجات الحيوانات التي تتغذى على الخبز الملوث (Jago and Jago, 1991). وتحديداً للأفراد المجربون اقتصادياً أو بيئياً على استهلاك الحبوب ومنتجات الحبوب الفاسدة في محاولة لتجنب المجاعة. هذا ما يعرضهم لآثار السموم الفطرية المعقدة، فبعض السموم الفطرية مسرطنة، وبعضها يسبب تلف الجهاز العصبي المركزي. ويمكن أن يسبب السم الفطري الواحد نوع واحد أو أكثر من الآثار الضارة للسموم الفطرية (Sperber and Doyle, 2009).

2-2-3 الفساد البكتيري في الخبز:

يعتبر فساد الخيوط البكتيري (Ropiness) ثاني أكبر مسبب لفساد منتجات المخازن بفعل الأحياء الدقيقة بعد العفن. ففساد الخيوط هو فساد بكتيري ناتج بشكل أساسي عن نمو بكتيريا *Bacillus subtilis* الموجبة الجرام، وأحياناً بسبب نمو *Bacillus licheniformis*، *B. pumilus*، *B. cereus*، *B. clausii*، و *B. firmus*. هذه الأنواع من البكتيريا شائعة في التربة، وبالتالي قد تتواجد على الأجزاء الخارجية من الحبوب والخضروات، كذلك قد تكون محمولة بالهواء أيضاً، إلا أن المصدر الرئيسي للتلوث بها هو المواد الخام (مثل الخميرة والدقيق وفتات الخبز)، حيث يحدث التلوث بجراثيم هذه البكتيريا عن طريق إضافة المواد الخام لتصنيع الخبز أو مما يعلق منها على معدات خط الإنتاج. ذلك كون جراثيم هذه البكتيريا مقاومة للحرارة، مما يمكنها من البقاء حية خلال عملية الخبز، وخصوصاً في منطقة وسط الرغيف (Cauvain and Young, 2007; Wang et al., 2017).

تؤثر ظروف تخزين الخبز على إنبات الجراثيم ونمو الخلايا الخضرية لبكتيريا *Bacillus spp.* ففساد الخيوط يحدث خلال الطقس الحار والرطب، حينها تنبت وتنمو جراثيم هذه البكتيريا داخل أرغفة الخبز خلال 36-48 ساعة. يمكن تمييز فساد الخيوط في الخبز بظهور رائحة الفاكهة المميّزة غير مرغوبة، حيث تكون الرائحة شبيهة برائحة الأناناس أو البطيخ زائد النضج؛ ذلك بسبب تكون المركبات المتطايرة من ثنائي أسيتيل والأسيتوين والأسيتالدهيد والأيزوفال ألدهيد، ومع تزايد الفساد يبدأ التحلل الإنزيمي بفعل إنزيمات الأميليز والبروتيناز البكتيرية، مسببة تحلل فتات الخبز فيتغير لون الفتات وتظهر الخيوط المطاطية اللزجة، وعند قطع رغيف الخبز إلى قسمين ستُظهر قطع الخبز المقسومة خيوطاً لزجة أو هلامية طويلة كما في الشكل رقم (2) (Cauvain and Young, 2007; Sperber and Doyle, 2009).

يمكن لبيئة المخازن أن تكون المسبب في تكاثر وانتشار بكتيريا *Bacillus spp.*، إلا أن إتباع التدابير اللازمة يساهم في التحكم بفساد الخيوط، كالتنفيذ الفعال لإجراءات التنظيف والصرف الصحي الجيدة، والتحقق من شهادات التوريد للمواد الخام لضمان انخفاض عدد جراثيم البكتيريا، وضمان إجراء عملية الخبز الكافية والتبريد السريع، واستخدام المواد الحافظة مثل حمض البروبيونيك وبروبيونات الكالسيوم قد يقلل بشكل كبير من حدوث الفساد (Wang et al., 2017).

(al., 2017). واتباع كل هذا جعل من حدوث فساد الخيوط نادر الحدوث في العديد من البلدان. إلا أن مخاطر فساد الخيوط قد تكون أكبر في بعض البلدان التي تواجه طلبات لتخفيض مستويات المواد الحافظة الصناعية كالمملكة المتحدة (Jago and Jago, 1991).



شكل (2): صورة توضح فساد الخيوط عند تقطيع رغيف الخبز من المنتصف.

2-2-4 فساد الخمائر في الخبز:

التلوث بالخمائر نادر الحدوث في الخبز المصنوع بمعاملات تخمير قصيرة، ولكنه قد يحدث أحياناً خلال عمليات التخمير الممتدة لفترة طويلة (Seiler, 1992). الخمائر مثل العفن لا تبقى حية بعد عملية الخبز، ولكن يمكن أن يتلوث الخبز بالخمائر أثناء عمليات التبريد والتقطيع. المصادر الرئيسية للتلوث هي من خلال التلامس المباشر مع المعدات المتسخة أو الأطعمة الملوثة المحتوية على نسبة عالية من السكر، والتي تعد من الركائز المثالية للخميرة. بشكل عام هنالك نوعان من الخمائر المتسببة في فساد الخبز (Legan and Voysey, 1991).

1. الخمائر المخمرة Fermentative yeasts: والتي تعمل على تخمير السكريات الموجودة في الخبز. تمتلك العديد من أنواع الخميرة هذه القدرة على النمو محدثة هذا الفساد، إلا أن *Saccharomyces cerevisiae* "خميرة الخباز" هي أكثرها شيوعاً.

2. الخمائر الخيطية Filamentous yeasts: تُعرف أيضاً باسم "أعفان الطباشير"؛ لصعوبة التمييز بينها وبين نمو العفن كونها تشكل نمو أبيض منتشر فوق سطح الخبز

كالطباشير، تم اعتبارها كخميرة وليس عفناً؛ ذلك لكونها وحيدة الخلية وتتكاثر عن طريق التبرعم. هناك أنواع مختلفة من أعفان الطباشير ولكن *Pichia burtonii* أكثرها شدةً وشيوعاً، ذلك كونها قادرة على النمو ومقاومة المواد الحافظة مقارنةً بالأعفان الأخرى (Jago and Jago, 1991).

2-3 التحكم في الفساد الميكروبي في صناعة الخبز:

2-3-1 التعبئة في عبوات معدلة هوائياً:

وفقاً لـ (Cauvain and Young, 2007) تشير التعبئة في عبوات معدلة هوائياً إلى تخزين المواد الغذائية بأجواء تتواجد فيها تركيزات متزايدة من ثاني أكسيد الكربون (3-10%). أصبح تطبيق التعبئة في عبوات معدلة هوائياً (MAP) في منتجات المخازن واسع الانتشار في أواخر السبعينات، خاصة في أوروبا حيث تطلبت اللوائح الجديدة الإفصاح عن المواد الحافظة المضافة في البطاقة الغذائية.

2-3-2 التشعيع

يمكن استخدام التشعيع للقضاء على جراثيم الفطريات التي قد تتواجد على أسطح الخبز. وأنواع الإشعاع المستخدمة في حفظ الخبز هي الأشعة فوق البنفسجية، والميكروويف، والأشعة تحت الحمراء. تستخدم الأشعة فوق البنفسجية لمعالجة أسطح منتجات المخازن المغلفة، مما يزيد من فترة صلاحيتها ويؤخر ظهور العفن. كما تتميز بأنها لا تولد حرارة هذا ما يحافظ على سلامة مواد التغليف ولا يؤدي لعيوب التكثيف. أما بالنسبة لأشعة الميكروويف فهي تتميز بالتسخين السريع والمتساوي، دون تفاوت كبير بدرجات الحرارة بين السطح وداخل المنتج، إلا أن استخدام أفران الميكروويف كوسيلة لحفظ الخبز مقيد بتأثير التسخين الناتج عن استخدامه. أخيراً تستخدم الأشعة تحت الحمراء لتدمير جراثيم الفطريات على الخبز عن طريق تسخين الأسطح إلى درجة الحرارة المرغوبة البالغة 75°م، دون التأثير سلباً على جودة المنتج ومظهره أو سلامة مادة التغليف، إلا أنه يعاب عليها ارتفاع التكاليف وخصوصاً في المنتجات التي تتطلب الدوران بين السخانات أو المعالجة في فرنين منفصلين (Cauvain and Young, 2007).

3-3-2 المواد الحافظة الصناعية (الكيميائية)

تعتبر أكثر طرق التحكم شيوعًا في صناعة الخبز هي استعمال المواد الحافظة الكيميائية كأحماض البروبيونيك والسوريك والأسيتيك وأملاحها، وأكثر هذه المواد الحافظة استخدامًا في صناعة الخبز هي البروبيونات، كما هو موضح في الجدول رقم (1).

جدول (1): أكثر المواد الحافظة الكيميائية استخدامًا في صناعة الخبز والمعتمدة من الاتحاد الأوروبي EU.

الرمز	المادة الحافظة	النسبة الموصى بها (%)*
E280	حمض البروبيونيك Propionic acid	0.1
E281	بروبيونات الصوديوم Sodium propionate	0.2
E282	بروبيونات الكالسيوم Calcium propionate	0.2
E5000	ثنائي بروبيونات الصوديوم Sodium dipropionate (محلول 70%)	0.2

المصدر: (Seiler, 1983).

* % على أساس وزن الدقيق.

تتضح آلية عمل بروبيونات الكالسيوم في أنها تتراكم داخل الخلية وتتنافس مع حمض الأنين والأحماض الأمينية الأخرى اللازمة لنمو الكائنات الحية الدقيقة، كما أنها تثبط الإنزيمات اللازمة لعملية التمثيل الغذائي. ولأن فعاليتها على الخميرة ضئيلة يمكن استخدام البروبيونات في الخبز كمادة حافظة دون تعطيل نشاط الخميرة أثناء التخمير في العجين (Cauvain and Young, 2007; Singhal & Kulkarni, 1999).

على الرغم من تصنيف هذه المركبات على أنها GRAS (معترف بها عمومًا أنها آمنة)، إلا أن استخدامها دون اتباع لوائح الاتحاد الأوروبي يسبب آثارًا ضارة على الإنسان (Silva and Lidon, 2016)، كذلك ليس لهذه المركبات قيمة غذائية معروفة (Saranraj and Geetha, 2012; Sharma, 2015). أيضًا فإن استخدامها يولد عدم رضا بسبب التحفظات على السمية، والفاعلية، والمقاومة التي طورتها بعض السلالات الميكروبية (Dengate and Ruben, 2002; Jing et al., 2014; Suhr and Nielsen, 2004).

2-3-4 المواد الحافظة الطبيعية في صناعة الخبز

قدمت عدد من الدراسات بعض المواد الحافظة الطبيعية المستعملة في صناعة الخبز، منها الزيوت الأساسية النباتية مثل زيت الخردل والقرفة والقرنفل والثوم (Jayashree et al., 2018)، كذلك بادئات العجين المخمر (sourdough) (Denkova et al., 2014)، والكيوتوزان القشري (Lafarga et al., 2013).

تزايد طلبات المستهلكين لتقليل العمليات التصنيعية، وخفض استخدام المضافات الصناعية في المنتجات الغذائية، دون المساس بسلامة الغذاء في نفس الوقت. تمت الموافقة على مضادات الميكروبات الصناعية في العديد من البلدان، إلا أن التوجه الحديث كان لاستخدام المواد الحافظة الطبيعية بسبب الآثار الصحية الضارة للمواد الصناعية. لإدراج المواد الحافظة الطبيعية في صناعة الأغذية العديد من المزايا، من حيث السلامة، وكونها واعدة لإحداث فرق إيجابي في القيمة الغذائية، وتقديم منتجات وظيفية جديدة. إلا أن كون المواد الحافظة المضافة طبيعية المصدر هذا لا يجعل منها آمنة بالضرورة، لذلك تخضع أي مادة حافظة جديدة مشتقة من مصادر طبيعية إلى تقييم سمية كامل قبل حصولها على الموافقات التشريعية اللازمة للاستخدام وإعلان أنها مناسبة، ولكن تقييمات السمية باهظة الثمن وبالتالي سترفع التكلفة بالنسبة لمعظم موردي المواد المضافة والمواد الخام. يمكن تجنب إجراء اختبار السمية عالي التكلفة عن طريق استخدام المواد الحافظة الطبيعية والموجودة بالفعل في النظام الغذائي للإنسان، بحيث يكون لها تاريخ طويل من الاستخدام، وبذلك تعتبر آمنة وصالحة للاستهلاك بالتركيزات الموصى بها لحفظ الطعام (Negi, 2012).

لذلك فإن تطوير واستخدام المزيد من الإضافات الطبيعية للخبز ومنتجات المخازن الأخرى مدفوع بضغوط المستهلكين للحصول على الغذاء مع الحد الأدنى من المضافات الكيميائية. هذا ما يسלט الضوء على أهمية إجراء المزيد من الأبحاث لتقديم مواد حافظة طبيعية جديدة تحد من فساد الأغذية عمومًا والخبز تحديدًا، مع تلبية طلبات المستهلكين في توفير مواد حافظة طبيعية آمنة ورخيصة وصحية.

4-2 الكيتوزان:

1-4-2 الكيتين والكيتوزان:

الكيتوزان هو بوليمر حيوي طبيعي، يحضر بعملية نزع الاستيل *N*-deacetylation من الكيتين، والكيتين هو ثاني أكثر البوليمرات الحيوية الطبيعية وفرة بعد السليلوز، والمكون الرئيسي للهياكل الخارجية في القشريات كما في الجمبري، والكرنند، والسلطعون. كذلك يمكن إيجاده في الطحالب البحرية، وفي جدار خلايا بعض الفطريات. وهو بوليمر أبيض، صلب، كاره للماء بدرجة عالية وغير قابل للذوبان في الماء ومعظم المذيبات العضوية (Dutta et al., 2005; Kumar et al., 2004). ولكن بتقليل مجاميع الأسيتيل أمين فيه إلى 50% يُنتج الكيتوزان، ليصبح بذلك ذائبًا في محاليل الأحماض الضعيفة. قامت الأبحاث بالتعديل الكيميائي للكيتين بغرض تحسين خواصه والحصول على مشتقاته، حيث تم تحضير العديد من مشتقات الكيتين **الجدول رقم (2)**، إلا أن الكيتوزان هو أكثر هذه المشتقات شيوعًا، حيث تم دراسته على مستوى المختبرات وعلى نطاق صناعي مع العديد من التطبيقات في مختلف المجالات (Raafat and Sahl, 2009; Rinaudo, 2006).

جدول (2): مشتقات الكيتين والكيتوزان.

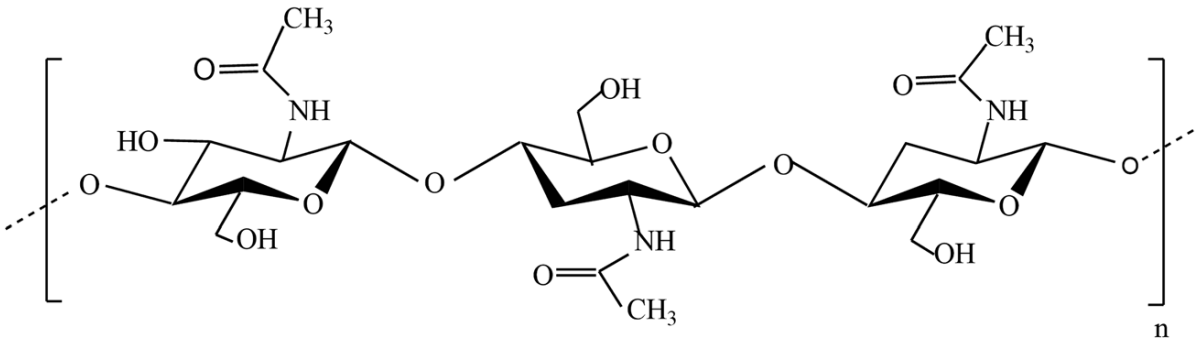
مشتقات الكيتين	مشتقات الكيتوزان
Chitosan	Chitosan oligosaccharides (COS)
Carboxymethylchitin	<i>O</i> and <i>N</i> carboxymethylchitosans
Fluorinated chitin	Chitosan 6- <i>O</i> -sulfate
<i>N</i> - and <i>O</i> -sulfated chitin	<i>N</i> -methylene phosphonic chitosans
(diethylamino)ethyl chitin	Trimethyl chitosan Ammonium
Phosphoryl chitin	Carbohydrate branched chitosans
Mercaptochitin	Chitosan-grafted copolymers
Chitin carbamates	Alkylated chitosans
Oligochitins	Cyclodextrin-linked chitosans

المصدر: (Tavaria et al., 2010).

2-4-2 تركيب الكيتين والكيروزان:

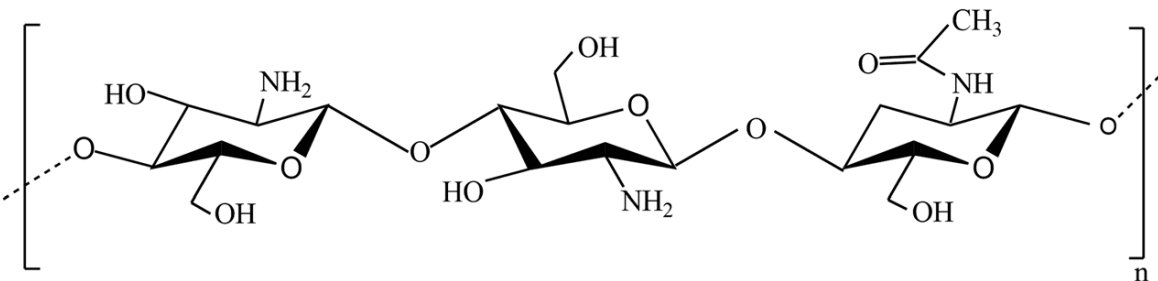
يتكون الكيتين من ناحية هيكلية من عديد بيتا (1-4) ن أسيتيل دي جلكوز أمين (β -) *N*-acetyl-D-glucosamine ((1→4)-). له هيكل مشابه لهيكل السليلوز مع استبدال الهيدروكسيل (OH) في الموضع C-2 بمجموعة أسيتاميد (NHC₂H₅). يحضر الكيروزان عن طريق عملية إزالة الأسيتيل *N*-deacetylation من الكيتين، حيث يتم في هذه العملية إزالة مجاميع الأسيتيل المرتبطة بجذور الأمين في موضع C-2، الشكل رقم (3). وعندما تنخفض مجاميع الأمين أسيتيل إلى 50% يتحول الكيتين إلى كيروزان. يتكون الكيروزان كبوليمر من وحدات *N*-acetylglucosamine و glucosamine. (Dutta et al., 2004; Raafat and Sahl, 2009; Rinaudo, 2006).

Chitin



Deacetylation

Chitosan



شكل (3): التركيب الكيميائي للكيتين والكيروزان (Khattak et al., 2019).

2-4-3 الكيتين والكيوتوزان الفطري:

يتواجد الكيتين في العديد من الأحياء الدقيقة كالفطريات والطحالب. تعد الفطريات مصادر محتملة للكيتين والكيوتوزان الفطري، من هذه الفطريات: *Mucor rouxii*، و *Absidia glauca*، و *Aspergillus niger*، و *Gongronella butleri*، و *Pleurotus sajor-caju*، و *Rhizopus oryzae*، و *Lentinus edodes*، و *Trichoderma reesei* (Huq et al., 2022). حيث أنه من الممكن بسهولة استزراع هذه الكائنات الحية الدقيقة في بيئات بسيطة واستخدامها كمصدر بديل للكيوتوزان، أيضاً هنالك إمكانيات كبيرة لاستخدام الفطريات كمصادر للكيوتوزان التجاري، فقد استخدمت مخلفات إنتاج حامض الستريك *Aspergillus* و *Agaricus bisporus* و *niger* كمصادر بديلة للكيوتوزان وقد تم تسويقها تحت مسمى (الكيوتوزان النباتي) (Sebastian et al., 2020).

2-4-4 أهمية المصادر الفطرية للكيوتوزان:

مخلفات القشريات البحرية هي المصدر الرئيسي لإنتاج الكيتين والكيوتوزان. ولكن مؤخراً حظي إنتاج الكيتين والكيوتوزان من المصادر الفطرية باهتمام متزايد بسبب مزاياه الكبيرة، ويوضح الجدول رقم (3) الفرق بين الكيوتوزان المستخلص من القشريات والكيوتوزان الفطري. ففي حين أن إمدادات مخلفات القشريات محدودة بمواسم ومواقع صناعة صيد الأسماك، يمكن الحصول على الفطريات بعمليات التخمير الملائمة والتي لا يحدها قيود جغرافية أو موسمية. كذلك تحتوي المصادر الفطرية على مستوى أقل من المواد غير العضوية المرتبطة مقارنة بمخلفات القشريات، وعليه لا يوجد حاجة لمراحل إزالة المعادن ونزع البروتين وإزالة اللون؛ هذا ما يجعل عملية الاستخلاص أبسط. كذلك فإن المصادر الفطرية خالية من مسببات الحساسية المحدثة للصددمات (anaphylactic shock) والمهددة للحياة. قد تختلف منتجات الكيتين والكيوتوزان القشرية في الخصائص الفيزيائية والكيميائية، بينما الكيتين والكيوتوزان الفطري لهما خصائص متسقة نسبياً؛ ذلك بسبب ظروف التخمير الخاضعة للرقابة (Rane and Hoover, 1993; Sebastian et al., 2020; Teng et al., 2001).

جدول (3): مقارنة بين الكيتين والكيروزان المستخرجان من مصادر قشرية ومصادر فطرية.

وجه المقارنة	مصادر قشرية	مصادر فطرية
توفرها	محدودة بمواقع صيد السمك ومواسمها	غير محدودة بقيود جغرافية أو موسمية
عملية الاستخراج	تتطلب استعمال مذيبات قوية	أبسط ولا يوجد حاجة لمراحل إزالة المعادن ونزع البروتين وإزالة اللون
مستوى المواد الغير عضوية	مستويات عالية	مستويات منخفضة
تكاليف إدارة المخلفات	مرتفعة	منخفضة
خطوة إزالة المعادن	مطلوبة	غير مطلوبة
الخواص الفيزيائية والكيميائية	مختلفة وغير متجانسة	متسقة ومتجانسة

المصدر: (Abo Elsoud and El Kady, 2019).

2-4-5 خواص الكيتوزان:

الكيتوزان متاح بأنواع مختلفة تختلف حسب عدد من الخواص منها: اختلاف درجة النقاء، والوزن الجزيئي، ودرجات نزع الأستيل، واللزوجة، وطول السلسلة، وقيم الاحتفاظ بالماء. هذا الاختلاف يؤثر بشكل كبير في خواص الكيتوزان الوظيفية، والتي بدورها تتحكم في جميع تطبيقاته تقريباً (Raafat and Sahl, 2009). فمثلاً يعتبر الوزن الجزيئي (Mw) Molecular weight أحد أهم العوامل المؤثرة في نشاطه البيولوجي وخصائصه الوظيفية (Rabea et al., 2003)، يتراوح متوسط الوزن الجزيئي للكيتوزان من عدة مئات إلى أكثر من مليون دالتون بمتوسط وزن جزيئي يصل إلى 1 مليون دالتون (Rhoades and Roller, 2000). يمكن تصنيف الكيتوزان تبعاً لوزنه الجزيئي إلى: وزن جزيئي منخفض (LMW): (>100 كيلو دالتون)، ومتوسط (MMW): (100-1000 كيلو دالتون)، ومرتفع (HMW): (<1000 كيلو دالتون) (Gonçalves et al., 2021)، يعتمد الوزن الجزيئي للكيتوزان على ظروف الاستخراج بشكل كبير مثل: مصدر الكيتين وتركيز القلوي ودرجة الحرارة المستعملة وحجم جزيئات الكيتين (Oh et al., 2001).

وتعتبر درجة نزع الأسيتيل (DD) Degree of deacetylation صفة هامة للغاية

تقدر كمية الوحدات الهيكلية *N*-acetyl D- و D-glucosamine في جزيء الكيتوزان (Raafat and Sahl, 2009). كذلك تعد الصفة الرئيسية المستخدمة للتمييز بين الكيتين والكيتوزان، حيث أن للكيتين درجة نزع الأسيتيل ($>50\%$)، بينما الكيتوزان ($<50\%$) (Akakuru et al., 2018). تتراوح قيمة DD في الكيتوزان ما بين 55-100%، اعتمادًا على المصدر، وعملية الاستخراج، وظروف التفاعل (He et al., 2016; Hussain et al., 2013). يمكن أن يتحكم DD في العديد من خواص الكيتوزان بما فيها قابليته للذوبان، والتفاعل الكيميائي، والنشاط الحيوي، وبالتالي سيؤثر على استخداماته الغذائية (Hajji et al., 2014).

تعد القابلية للذوبان إحدى الطرق الرئيسية للتمييز بين الكيتين والكيتوزان، فبينما يعد الكيتين غير قابل للذوبان في معظم المحاليل المائية، إلا أن الكيتوزان قابل للذوبان في الأحماض المخففة عند $pH > 6.0$ مثل أحماض الأسيتيك والفورميك واللاكتيك (Abo Elsoud and El Kady, 2019)، والأسكوريك والماليك والسكسينيك (Romanazzi et al., 2009). تعتمد قابلية الذوبان للكيتوزان على مصدره، ووزنه الجزيئي، و DD (Goy et al., 2009). وتؤثر قابلية الكيتوزان للذوبان على أنشطته الحيوية بما في ذلك نشاطه المضاد للأوكسدة والمضاد للأحياء الدقيقة (Kumirska et al., 2011).

2-4-6 النشاط البيولوجي للكيتوزان في جسم الإنسان

للکیتوزان العديد من الأنشطة البيولوجية فهو متوافق حيويًا، وقابل للتحلل إلى مكونات الجسم العادية، آمن وغير سام، وموقف للتنظيف، ومضاد للفطريات، وذو نشاط مضاد للأورام (Dutta et al., 2004)، وهو معروف على نطاق واسع بنشاطه القوي كمضاد للأحياء الدقيقة (Rabea et al., 2003)، كذلك قد أُعترف بدوره المساعد في الحفاظ على مستوى صحي لكوليسترول الدم (MFDS, 2016a)، والعديد من الأنشطة الأخرى. ولكن نظرًا لتخصص هذه الدراسة فقد تم التركيز على نشاط الكيتوزان المضاد للأحياء الدقيقة.

7-4-2 نشاط الكيتوزان المضاد للأحياء الدقيقة

من المعروف أن الكيتوزان يُظهر نشاطاً مضاداً للأحياء الدقيقة ضد مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة مثل البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام والفطريات والخمائر التي تم فحصها في الجسم الحي وفي المختبر (Benhabiles et al., 2012; Kong et al., 2010). يعتمد نشاط الكيتوزان المضاد للأحياء الدقيقة على نوع الكائنات الحية الدقيقة المختبرة، حيث أن أسلوب عمله على البكتيريا سالبة الجرام قد يختلف عن البكتيريا موجبة الجرام؛ ذلك بسبب الاختلافات في جدرهما الخلوية (Kong et al., 2010). كذلك وجد أن الكيتوزان قد يكون أكثر فعالية على الفطريات منه على البكتيريا (Muñoz-Bonilla et al., 2014). سيتم توضيح آليات عمل الكيتوزان المضادة للبكتيريا والفطريات كالتالي:

1-7-4-2 آليات نشاط الكيتوزان المضاد للبكتيريا

وجد أن تأثير الكيتوزان المضاد للبكتيريا يكون إما عن طريق قتل البكتيريا (bactericidal)، أو تثبيط نموها (bacteriostatic) (Coma et al., 2002). ولكن آلية عمل الكيتوزان المضادة للميكروبات غير معروفة بدقة؛ لذلك تم اقتراح عدد من الفرضيات لآلية عمل الكيتوزان المضاد للبكتيريا.

الآلية الأولى والأكثر قبولاً لنشاط الكيتوزان المضاد للبكتيريا هي أن التفاعل الكهروستاتيكي (electrostatic) بين جزيئات الكيتوزان موجبة الشحنة مع غشاء خلية البكتيريا سالبة الشحنة قد يغير من نفاذية غشاء الخلية مما يؤدي إلى إنعدام إيزان التناضح الداخلي، وبالتالي يؤدي إلى تثبيط نمو البكتيريا (Muñoz-Bonilla et al., 2014). كما وجد أن التفاعل الكهروستاتيكي يؤدي إلى تحلل الببتيدوجليكان (peptidoglycan) في البكتيريا موجبة الجرام مما يؤدي إلى تسرب المواد داخل الخلية مثل الأحماض النووية والبروتينات والجلوكوز، ذلك ما يعيق التمثيل الغذائي الطبيعي للبكتيريا مما يؤدي إلى موت الخلية (Rabea et al., 2003).

الآلية الثانية المقترحة هي أنه يمكن للكيتوزان LMw ذو الجسيمات النانوية متناهية الصغر (ultrafine particles) والقابل للذوبان في الماء اختراق جدار الخلية البكتيرية، فتتفاعل

شحنة جزيء الكيتوزان الموجبة مع DNA البكتيري. يمكن أن يوقف هذا التفاعل تخليق البروتين من خلال تثبيط الحمض النووي الريبي الرسول (mRNA) (Liu et al., 2007;) (Sudarshan et al., 1992).

تستند الفرضية الثالثة التي تشرح آلية الكيتوزان المضادة للميكروبات على دوره في استخلاص المعادن. فقد اقترح أنه نظرًا لارتفاع نسبة النيتروجين في الكيتوزان، فإنه يتمتع بقدرة عالية على جذب المعادن (Roller and Covill, 1999). تعتبر الأيونات المعدنية المتحددة مع جدار الخلية في الكائنات الحية الدقيقة ضرورية لاستقرار جدار الخلية. وعلى ذلك فإنه عادةً ما يتم ربط نشاط الكيتوزان في استخلاص المعادن مثل هذه الأيونات المعدنية بطريقة محتملة لعمله المضاد للميكروبات (Rabea et al., 2003). خصوصًا وأن قدرة الكيتوزان على الاستخلاص تلعب دورًا في ظروف pH المتعادلة ولسيت الحامضية فقط (Kong et al., 2008a). عند $pH < 6$ تصبح المجموعات الأمينية الموجودة على جزيء الكيتوزان غير مشحونة ويصبح زوج الإلكترون الخاص بها متاحًا ليرتبط بالمعدن، مما يمكنها من الارتباط بالمعادن المحيطة بالبكتيريا، هذا ما قد يؤدي إلى انسداد تدفق المغذيات (Guibal, 2004; X. Wang et al.,) (2005).

2-7-4-2 آلية نشاط الكيتوزان المضاد للفطريات

يؤثر الكيتوزان على أنواع مختلفة من الفطريات عن طريق التثبيط لإنبات الجراثيم واستطالة الأنبوب الجرثومي والنمو الشعاعي (Tavaria et al., 2010). الآليات المقترحة لنشاط الكيتوزان المضاد للفطريات مشابهة لنشاطه المضاد للبكتيريا المقترحة فيما سبق. حيث أنه من المرجح للكيتوزان أن يقتل الفطريات من خلال التفاعل مع الفسفوليبيدات سالبة الشحنة في الغشاء الخارجي للفطريات مما يتسبب في تسرب المواد الخلوية. بالإضافة إلى ذلك يمكن للكيتوزان أن يرتبط مع DNA الفطريات، مما يوقف تخليق البروتين (García-Rincón et al.,) (2010; Kong et al., 2010; Márquez et al., 2013).

2-4-7-3 العوامل المؤثرة على نشاط الكيتوزان المضاد للميكروبات

يعتمد عمل الكيتوزان المضاد للميكروبات على عدة عوامل كنوع الميكروب، وخصائص الكيتوزان الفيزيائية والكيميائية مثل: الوزن الجزيئي، ودرجة نزع الأسيتيل، ودرجة الذوبان، بالإضافة إلى العوامل البيئية مثل pH، ودرجة الحرارة، وتركيز الكيتوزان في المحلول (Devlieghere et al., 2004; Fei et al., 2001). كذلك لحالة تطبيق الكيتوزان الفيزيائية تأثير كبير على نشاطه المضاد للميكروبات (Muñoz-Bonilla et al., 2014).

لنوع البكتيريا وخصائص غشاء الخلية تأثير مهم على نشاط الكيتوزان المضاد للبكتيريا. فعلى الرغم من عدم وجود دليل على الاختلاف بين تأثير الكيتوزان المثبط للبكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام، إلا أن بعض الباحثين يرون أن تأثير الكيتوزان أعلى ضد البكتيريا سالبة الجرام (Chung et al., 2004). حيث أن غشاء الخلية الخارجي للبكتيريا سالبة الجرام يتكون من عديدات السكاريد الدهنية (lipopolysaccharides)، والتي توفر عددًا أكبر من الشحنات السالبة على سطح الخلية فتكون متاحة للتفاعل مع الشحنات الموجبة للكيتوزان (Chung et al., 2004; Zhong et al., 2008). بينما لم يدعم مؤلفون آخرون هذه الفكرة وادعوا أن الكيتوزان يُظهر تأثيرًا أعلى ضد البكتيريا موجبة الجرام، لأن الغشاء الخارجي البكتيري سالب الجرام يوفر حاجزًا إضافيًا للخلايا (Eldin et al., 2008; Wang et al., 2004).

تم التطرق لتأثير الوزن الجزيئي للكيتوزان على النشاط المضاد لنمو البكتيريا والفطريات في عدد من الدراسات (Tokura et al., 1994; Zheng and Zhu, 2003). أظهر الكيتوزان LMw (8.5-9.5 كيلو دالتون) ازدياد في نشاطه القاتل للبكتيريا تجاه كل من *E. coli* و *B. cereus* مقارنةً بالكيتوزان ذو وزن جزيئي أعلى (Kumar et al., 2007). كذلك في دراسة أخرى وجد أن الكيتوزان LMw يُظهر نشاطًا قويًا مضادًا للفطريات (Park et al., 2008). يلاحظ أن التأثير المضاد للميكروبات يكون أفضل في الكيتوزان بوزن جزيئي يتراوح ما بين 10 - 100 كيلو دالتون (Dutta et al., 2009).

الزيادة في درجة نزع الأستيل للكيروزان (DD) تعني زيادة في D-glucosamine وبالتالي زيادة النشاط المضاد للميكروبات؛ السبب في ذلك هو ازدياد قابلية الذوبان وكثافة الشحنة الموجبة (Sekiguchi et al., 1994). فقد وجد أن الكيروزان ذو DD عال (97.5%) أعطى كثافة شحنة موجبة أعلى، وهذا ما أدى لزيادة النشاط المضاد للبكتيريا ضد *Staphylococcus aureus* موجبة الجرام مقارنة بالكيروزان ذو DD المعتدل (83.7%) عند 5.5 pH (Kong et al., 2008b). لدرجة الـ pH تأثير مهم أيضًا، فقد وجد أن للكيروزان نشاط مضاد للميكروبات أعلى مع انخفاض الـ pH بسبب زيادة قابلية ذوبان الكيروزان في المحاليل الحمضية، وبالتالي زيادة كثافة الشحنة الموجبة (Rhoades and Roller, 2000).

2-5 تطبيقات الكيروزان في الغذاء:

للكيروزان مدى واسع من التطبيقات في العديد من المجالات مثل الزراعة، والصيدلة، وصناعة الأغذية، وصناعة مستحضرات التجميل، إلى معالجة المياه، وحماية النباتات. ويعود اتساع مدى هذه التطبيقات إلى خواص الكيروزان البيولوجية المتعددة (Dutta et al., 2004). في صناعة الأغذية يتميز الكيروزان عن بقية البوليمرات الصناعية، فهو مدرج كمضاف غذائي في اليابان (MHLW, 2020)، وكوريا (MFDS, 2020)، كذلك وفقًا لوزارة سلامة الغذاء والدواء الكورية فالكيروزان معترف به كمادة مضافة وظيفية في لائحة معايير إنتاج الأغذية الوظيفية (MFDS, 2016b). وإلى جانب عدم سمية الكيروزان تجاه خلايا الإنسان، فإن استعماله كعامل مضاد للأحياء الدقيقة فتح الأفق لكثير من تطبيقاته الغذائية، والتي هدفت لتحسين جودة الغذاء وإطالة فترة الصلاحية (Gutiérrez, 2017)، حيث تم التحقق من تأثير الكيروزان واستخداماته المحتملة كمادة حافظة في اللحوم (El-Refai et al., 2017; Alam et al., 2018)، كذلك كغشاء لتمديد فترة صلاحية البيض (Bhale et al., 2003)، وتم تطبيقه أيضًا كغشاء مباشر على العديد من الفاكهة والخضروات (Chien and Chou, 2006; Durango et al., 2006; Muzzarelli et al., 2012).

في عام 2011 أعترف بالكيوتوزان المستخلص من الفطر *Aspergillus niger* بأنه آمن عمومًا (GRAS) لاستعماله كمضاف غذائي ثانوي بموجب اللائحة الصادرة عن إدارة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA, 2011)، كذلك تمت دراسة تأثير إضافة الكيوتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية في عديد من التطبيقات الغذائية بنجاح (Alsaggaf et al., 2017; Melo et al., 2020a; Melo et al., 2020b).

2-5-1 تطبيقات الكيوتوزان في الخبز:

خلال العقدين الماضيين دُرس تأثير إضافة الكيوتوزان القشري - بعدد من التركيزات والأوزان الجزيئية المختلفة- للخبز. وذلك لأهداف منها تدعيم الخبز بالألياف لصناعة خبز وظيفي، دراسة تأثير الكيوتوزان على جودة الخبز، وكذلك تمديد فترة صلاحية الخبز نتيجة تأثيرات الكيوتوزان المضادة للأحياء الدقيقة. فمثلاً قام Lee et al. (2002b) باستعمال الكيوتوزان التجاري بأنواع مختلفة من الوزن الجزيئي المنخفض LMw، حيث كانت الأوزان الجزيئية كالتالي: 1 و 5 و 30 و 120 كيلو دالتون، وضيف الكيوتوزان بتركيزات مختلفة للتحقق من تأثيراته المضادة للأحياء الدقيقة في الخبز، بدايةً تم دراسة التأثير المثبط للكيوتوزان على عدد من الأحياء الدقيقة ومن ضمنها *Saccharomyces cerevisiae*، وكان التأثير المثبط على الخميرة ضعيفاً عند مرور 3 ساعات بل كاد أن يكون معدوماً عند التركيزات المنخفضة، وازداد التأثير المثبط بزيادة فترة التعرض بعد ذلك، وعليه أعتقد الباحثون أن الكيوتوزان لن يمنع نمو الخميرة بشكل كبير خلال وقت التخمر الفعلي. بعد ذلك صُنعت عينات الخبز بالكيوتوزان واستخدم في هذه الدراسة LMw الأقل: 1 و 5 كيلو دالتون و DD = 95% لكلاهما، و LMw الأعلى: 30 و 120 كيلو دالتون و DD = 92% و 85% على التوالي، وتمت إذابة الكيوتوزان ذو LMw أقل في الماء، بينما أُذيب LMw الأعلى في 0.3% حمض لاكتيك، وأضيف بالتركيزات 0.01% و 0.1% و 0.3% و 0.5% من الوزن الاجمالي للعجين. وخزنت عينات الخبز الناتجة لمدة ثمانية أيام على درجة حرارة 27°م. لم يكن للكيوتوزان بالأوزان الجزيئية 1 و 5 كيلو دالتون تأثير مثبط

على نمو البكتيريا، بينما ظهر التأثير المثبط في نتائج العد الكلي للبكتيريا عند 30 و 120 كيلو دالتون، والذي ازداد بزيادة التركيز المضاف من الكيتوزان، حيث لم يسجل الباحثون عد مستعمرات البكتيريا إلا بمرور 4 أيام من التخزين، و حتى بعد ثمانية أيام من التخزين سُجلت أعداد البكتيريا في النطاق $10^1 \sim 10^3$ ml/CFU. استنتجت الدراسة أنه يمكن استعمال الكيتوزان LMw الأعلى كمادة حافظة للخبز، وأن الأثر المثبط للكيتوزان على الأحياء الدقيقة يزداد بزيادة التركيز المضاف، وزيادة الوزن الجزيئي (ضمن مدى الوزن الجزيئي المنخفض للكيتوزان).

في دراسة أجراها Kim (2004) استخلص الكيتوزان وأوليغوسكريدات الكيتوزان (COS) من سرطان البحر، تم إضافتهما للخبز بنسب 0%، و 0.1%، و 1%، و 3% كيتوزان، و 1% COS على أساس وزن الدقيق، ودراسة تأثيرهما على فترة صلاحية الخبز المحضر بطريقة العجن المباشرة والمخزن لمدة سبعة أيام على درجة حرارة 30 °م. لاحظ الباحث فعالية إضافة الكيتوزان و COS في خفض معدل فقد الرطوبة بالخبز مقارنة بالعينة الضابطة، والتي أظهرت فقدان مرتفع بالرطوبة عند اليوم السابع، بينما كان معدل فقد الرطوبة أقل في المعاملات الأخرى بهذا الترتيب: 1% COS يليه 3%، 1%، و 0.1% من الكيتوزان، وعليه يعتقد الباحث أن هذه الظاهرة ناتجة عن القدرة العالية للكيتوزان و COS على الاحتفاظ بالرطوبة، وأن هذه القدرة قد تؤدي لتأخير تجلد الخبز. بينما في نتائج الاختبارات الميكروبيولوجية تضاعف العدد الكلي للبكتيريا خلال مدة التخزين ولم يظهر التركيز 0.1% فرق معنوي عن العينة الضابطة، وازداد التأثير المثبط بازدياد تركيز الكيتوزان، بينما نتج عن الملاحظة البصرية لعينات الخبز ظهور العفن في اليوم الثالث والرابع للمعاملة 0% و 0.1% على التوالي، وفي اليوم الخامس للمعاملتين 1% و 3%، بينما تم تأكيد ظهور العفن بمعاملة COS 1% في اليوم السادس. وأوصت الدراسة بالمعاملتين 3% للكيتوزان، و COS بنسبة 1%. يلاحظ في هذه الدراسة ارتفاع التركيز الموصى به من الكيتوزان مع عدم تقييم المعاملة حسيًا، ففي حين أن 3% هو

الأكثر فعالية في تثبيط نمو الأحياء الدقيقة، إلا أنه قد يؤثر في نفس الوقت سلبيًا على خواص وجودة الخبز الناتج، أيضًا يعاب عليها عدم تحديد Mw للكييتوزان المستخدم، حيث أنها معلومة مهمة للفصل بين تأثيرات الكييتوزان بشكل واضح، إلا أن هذه الدراسة تتفق مع سابقتها في كون التأثير المثبط للأحياء الدقيقة قد يزداد بازدياد التركيز المضاف من الكييتوزان.

أجريت دراسة لتفسير تأثير أنواع مختلفة من الكييتوزان و COS التجاري والمضاف للخبز على معدل حدوث التجلد وخواص قشرة ولبابة الخبز. استعمل الباحثون خاصية الزوجة كدلالة غير مباشرة على الوزن الجزيئي للكييتوزان، فكانت لزوجة أنواع الكييتوزان المستخدمة منخفضة الوزن الجزيئي LMw ومتوسط الوزن الجزيئي MMw و Chitosan succinate تعادل 29 و 70 و 3.1 سنتيبواز على التوالي، بينما لزوجة أنواع COS المستخدمة COS acetate و COS lactate و COS ascorbate و COS succinate تعادل 1.9 و 1.8 و 2.2 سنتيبواز على التوالي، أضيفت جميع الأنواع بنسبة ثابتة 2% من الوزن الكلي للعجين، حيث أشارت النتائج إلى أن إضافة الكييتوزان MMw كان له تأثير كبير في خفض الحجم النوعي للخبز، كذلك أدت إضافته لزيادة صلابة اللبابة، وحدثت إضافته بضع ولون قشرة غير متساوي، وعلى ذلك فإن إضافة الكييتوزان MMw كان له التأثيرات الأكثر سلبية على الحجم والقوام واللون والتجلد. في حين أن إضافة COS acetate و COS lactate و COS ascorbate حافظت على الحجم النوعي للخبز، ولم تظهر تأثيرات سلبية على لون القشرة وصلابة اللبابة خلال خمسة أيام من التخزين، لوحظ في هذه الدراسة أن إضافة الكييتوزان LMw و COS زادت من معدل تجلد لبابة الخبز، إلا أن إضافة الكييتوزان MMw تحدث زيادة كبيرة في معدل التجلد مقارنة بهما. وعليه فإن انخفاض الوزن الجزيئي للكييتوزان لا يزيد من النشاط المضاد للأحياء الدقيقة فقط، بل قد يقلل أيضًا من تأثيرات الكييتوزان السلبية على جودة الخبز (Kerch et al., 2010).

درس (Lafarga et al. (2013 تأثير استبدال الدقيق بالكييتوزان المستخلص من مخلفات قشور الجمبري بكتلة جزيئية 124000 ± 10000 g/mol وتركيز 1%، على خواص الجودة في الخبز كاللون، والرطوبة، والقوام، والحجم في اليوم الأول والخامس من التخزين،

وكذلك تأثيره المضاد للأحياء الدقيقة ضد ظهور العفن ومسببات الخيوط الممرضة *Bacillus cereus* في الخبز. أظهرت النتائج أن إضافة الكيتوزان أدت إلى انخفاض بالحجم النوعي للخبز مقارنةً بالعينة الضابطة، ولكنها لم تظهر تأثير معنوي على اللون والرطوبة وصلابة القوام في اليوم الأول والخامس، إلا أن إضافته أدت لانخفاض معنوي في طراوة القوام لخبز الكيتوزان عند اليوم الخامس. بينما أظهرت نتائج الاختبارات الميكروبيولوجية للدراسة عن ظهور تثبيط كامل لنشاط الخميرة عند تركيز 4% كيتوزان (اختبار مبدئي)، وانخفاض بنشاطها عند تركيز 1%. ولاختبار خواص الكيتوزان المضادة للأحياء الدقيقة في الخبز قسمت عينات الخبز لثلاث معاملات A و B و C، ولُفحت المعاملات ببكتيريا *B. cereus* و مرق مغذي ومعاملة بدون تلقيح على التوالي، ثم حُضنت في أطباق بتري على درجة حرارة 30 °م. نتج عن ذلك تثبيط لنمو بكتيريا *B. cereus* ولم تكون الخيوط على مدار ثلاثة أيام في عينات خبز الكيتوزان، بينما طورت عينات الخبز الضابطة رائحة فاكهة قوية بعد 24 ساعة فقط من التحضين. كذلك ظهرت فروق معنوية بين المعاملتين حيث لاحظ الباحثون تأخير في ظهور نمو العفن الطبيعي في خبز الكيتوزان. كشفت هذه الدراسة عن إمكانية استعمال الكيتوزان المستخرج من قشور الجمبري بتركيز 1% كمكون خبز مضاد للأحياء الدقيقة بدون تأثير كبير على الجودة العامة للخبز أو قبوله، وأن ارتفاع تركيز الكيتوزان المضاف لنسبة 4% قد يؤدي لتثبيط عملية تخمر عجينة الخبز.

قامت دراسة باستخلاص الكيتوزان و COS من قشور الجمبري، وتقدير كمية وصفات المنتج وتقييم فعاليته المضادة للأحياء الدقيقة، حيث استُخلص الكيتوزان و COS بأوزان جزيئية: 650 و 13 كيلو دالتون على التوالي. واتبع الباحثان طريقة (Kerch et al. (2010) في صناعة الخبز مع تعديلات، حيث قاما باستبدال 1% من الدقيق بالكيتوزان و COS بدلاً من إضافته على أساس الوزن الكلي للعجين، ولاختبار فعاليتيهما المضادة للأحياء الدقيقة في الخبز لُفحت الثلاث عينات ببكتيريا *B. cereus* في حين أُعدت ثلاث عينات أخرى من الخبز على أنها غير ملقحة، وحضنت العينات في أكياس بلاستيكية عند 30 °م لمدة أربعة أيام. بدأت

عينة الكيتوزان بتكوين الخيوط ورائحة الفاكهة بعد اليوم الثالث وأظهرت تأثيراً مثبتاً للعفن حيث لم يظهر أي نمو حتى بعد اليوم الرابع من التحضين، في حين كونت العينة الضابطة خيوطاً ورائحة الفاكهة بعد أول 24 ساعة، وأظهرت نمو أكبر للعفن على القشرة وسطح الشريحة. في الجهة أخرى أبلغ الباحثان عن تفوق عينة COS حيث أعيق تكوين الخيوط ونمو العفن على الخبز عند مراقبته لمدة أربعة أيام، كما أنتجت العينة رائحة فاكهة أقل مقارنة بالكيتوزان والضابطة، يرى الباحثان أن انخفاض Mw للكيتوزان يجعله مناسباً للتطبيقات المضادة للبكتيريا والمضادة للأكسدة والمضادة للأورام، في حين أن ارتفاع Mw هو المسؤول عن انخفاض ذوبان الكيتوزان في الماء. وأن انخفاض Mw، وارتفاع DD في COS المستخلص، هو ما أوجد قابلية عالية له على الذوبان، وزاد من تأثيراته المضادة للأحياء الدقيقة مقارنة بالكيتوزان (Rakkhumkaew and Pongsuk, 2018).

قام Ghoshal and Mehta (2019) بدراسة تأثير إضافة الكيتوزان التجاري بوزن جزيئي 1526.464 g/mol كمصدر طبيعي للألياف على الخواص الطبيعية والكيميائية والريولوجية والحسية للخبز، حيث أضيف الكيتوزان بالنسب التالية: 0.5%، و1%، و1.5%، و2% من وزن العجين الكلي، أظهرت النتائج انخفاض معنوي في الحجم النوعي، وزيادة في معدل فقدان الرطوبة عند إضافة 1% كيتوزان ويزداد التأثير الغير مرغوب طردياً بازدياد الكيتوزان المضاف، ونتج عن اختبار القوام زيادة في صلابة الخبز مع ازدياد فترة التخزين وتركيز الكيتوزان المضاف، وكانت العينة الضابطة أقل تجلداً من عينات الكيتوزان خلال فترة التخزين. سجل تقييم النكهة والطعم وقوام لبابة وقشرة الخبز والذي أجري لمدة ثلاثة أيام بشكل مستمر عدم قبول المستهلكين للخبز المحتوي على 2% كيتوزان، حيث كانت هذه المعاملة أكثر صلابة من باقي المعاملات الأخرى والمحتوية على نسب متفاوتة من الكيتوزان. ويرى الباحثون أن الخبز المصنوع من 1% كيتوزان خياراً أفضل، والذي يلبي احتياجات المدخول اليومي من الألياف.

الباب الثالث

المواد والطرق

Materials and Methods

3- المواد والطرق

1-3 المواد Materials:

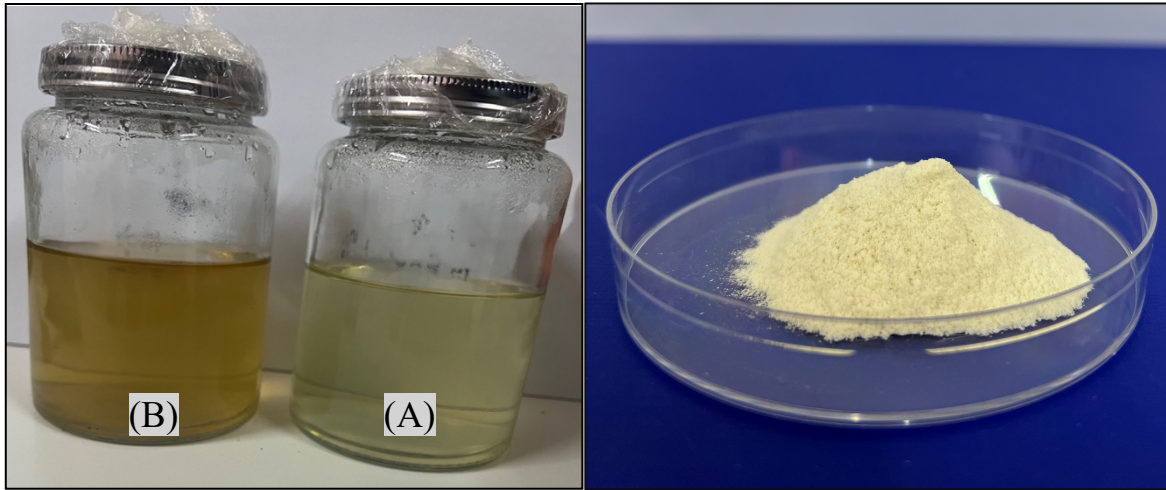
استخدم في تنفيذ التجارب العملية للدراسة العديد من المواد الخام كما يلي:
أ- تم شراء كل من دقيق القمح الفاخر (استخلاص 70%)، السكر، الزبدة، الخميرة، الملح، المستخدمة لتصنيع الخبز من السوق المحلي في مدينة عنيزة، منطقة القصيم.
ب- المواد المضافة:

تم الحصول على الكيتوزان الفطري (Food Grade)، بوزن جزيئي منخفض (LMw) = 30-15 كيلو دالتون، ودرجة نزع أسيتيل (DD) = 98.21%، ولزوجة = 17mpa، من الشركة (Qingdao Chibio Biotech Co., Ltd., China).
تم الحصول على حمض الأسكوربيك من شركة دوفز، بلد المنشأ المملكة المتحدة.
تم الحصول على بروبيونات الكالسيوم بنسبة نقاوة 99% (Food Grade)، بلد المنشأ الصين من مصنع بيكميت للمساحيق الغذائية والخميرة - المملكة العربية السعودية.

2-3 الطرق Methods:

1-2-3 تحضير محاليل الكيتوزان الفطري:

تم تحضير محاليل الكيتوزان الفطري الواضحة في الشكل رقم (4)، وفقاً لما ذكره (Lee et al., 2002a) مع بعض التعديلات. فقد تمت إذابة مسحوق الكيتوزان الفطري والمضاف بالنسب 0.5، 1، و1.5% في محلول مخفف من حمض الأسكوربيك حُضِرَ إذابة (0.7% حمض أسكوربيك على أساس وزن الدقيق) في ماء مقطر، والتسخين في حمام مائي على درجة حرارة 60 °م حتى تمام الذوبان، وضُبطت درجة pH بعد تمام الذوبان والتبريد عند (pH 6.1)، كذلك أيضاً ضُبطت درجة pH للماء المقطر المستعمل في العجن لبقية المعاملات عند نفس الدرجة. أخيراً تم توحيد كمية الماء المضاف إلى جميع المعاملات تحت الدراسة، وذلك بطرح كمية الماء المستعملة بتذويب الكيتوزان (450 مل) من كمية ماء العجن الكلية.



(2)

(1)

الشكل (4): صور أثناء تحضير محاليل الكيتوزان الفطري. (1) مسحوق الكيتوزان الفطري، (2) محاليل الكيتوزان بعد تمام ذوبانها: (A) محلول الكيتوزان الفطري المذاب بنسبة 0.5%، (B) محلول الكيتوزان الفطري المذاب بنسبة 1%.

3-2-2 إعداد عينات خبز القوالب المختلفة:

أعدت عينات خبز القوالب Pan bread وفقاً للمكونات والطريقة التي ذكرها (Kerch et al., 2010)، على أساس 100% من وزن الدقيق، 7.7% سكر، 4.7% زبد، 3% خميرة جافة، 1.6% ملح، 60% ماء (وذلك بناءً على التجارب المبدئية التي أجريت على العينات لتحديد نسبة امتصاص الدقيق للماء). ولم تضاف أي مادة حافظة للعينات الضابطة، كما هو موضح في الجدول رقم (4).

كما تم تصنيع عينات الخبز المحتوية على الكيتوزان الفطري كما في العينة الضابطة مع إضافة نسب مختلفة من مسحوق الكيتوزان الفطري (0.5، 1، و 1.5%) على أساس وزن الدقيق، والمذابة في محلول مخفف من حمض الأسكوربيك. كذلك تم تصنيع عينات أخرى من الخبز بغرض المقارنة في التحاليل الميكروبية تحتوي على مواد حافظة صناعية مثل (0.3% بروبيونات الكالسيوم، و 0.7% حمض الأسكوربيك). واتبعت الطريقة المباشرة Straight dough method لصناعة العجينة وفقاً لما ذكر في (AACC, 2000)، ثم قسمت العجينة لقطع متساوية بوزن 170 جم ووضعت في القوالب المخصصة للخبز (14.7x8.9x6.4 سم)، وبعد التخمر لمدة حوالي ساعة على درجة حرارة 33-35 °م ورطوبة نسبية 80-85% في المخمر الكهربائي كما في الشكل رقم (5)، تم الخبز في الفرن

الكهربائي على درجة حرارة 240 م° لمدة 12 دقيقة. أخرجت عينات الخبز من القوالب لتبرد على درجة حرارة الغرفة لمدة 40 دقيقة، ثم عبأت في أكياس بلاستيك محكمة الغلق ثم خزنت لمدة خمسة أيام على درجة حرارة الغرفة (22±3 م°).

جدول (4): المكونات الأساسية في تحضير معاملات خبز القوالب

المعاملات						%	المواد
حمض الأسكوربيك %0.7	بروبيونات الكالسيوم %0.3	كيتوزان %1.5	كيتوزان %1	كيتوزان %0.5	العينة الضابطة		
الوزن (جم)							
600	600	900	900	900	900	100	دقيق القمح
46.2	46.2	69.3	69.3	69.3	69.3	7.7	السكر
28.2	28.2	42.3	42.3	42.3	42.3	4.7	الزبدة
18	18	27	27	27	27	3	الخميرة
9.6	9.6	14.4	14.4	14.4	14.4	1.6	الملح
360	360	540	540	540	540	60	الماء
-	1.8	13.5	9	4.5	-	-	المادة الحافظة
4.2	-	6.3	6.3	6.3	-	0.7	حمض الأسكوربيك



الشكل (5): صور بعض مراحل تصنيع الخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري. (1) فترة راحة العجينة، (2) رص العجينة في القوالب، (3) تخمير العجينة داخل المخمر، (4) الخبز بعد الإنضاج الحراري.

3-2-3 تقدير الصفات الطبيعية لعينات خبز القوالب:

تم تقدير الصفات الطبيعية لعينات خبز القوالب بعد الخبز والتبريد مباشرة، حيث تم تقدير الوزن (جم)، والحجم (سم³) وفقاً لطريقة الإحلال بإزاحة الحبوب (الدخن)، يليه حساب الحجم النوعي للخبز (سم³/جم) وفقاً للطريقة المذكورة في (AACC, 2000)، وحساب الفقد في الوزن أثناء الخبز (%) باستخدام المعادلات التالية:

$$\text{الحجم النوعي} = \frac{\text{حجم الخبز (سم}^3\text{)}}{\text{وزن الخبز (جم)}}$$

$$100 \times \frac{\text{وزن العجينة} - \text{وزن الرغيف}}{\text{وزن العجينة}} = \text{الفقد في الوزن أثناء الخبز}$$

4-2-3 التقييم الحسي لعينات خبز القوالب:

أُجري التقييم الحسي لعينات خبز القوالب المحتوية على نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري وذلك بعد الإنضاج الحراري والتبريد كما في الطريقة التي ذكرها (Ayo and Nkama, 2004)، وذلك بواسطة 17 من المحكمين ذوي الخبرة بالصفات الحسية الجيدة لخبز القوالب في قسم علوم الأغذية وتغذية الإنسان بكلية الزراعة والطب البيطري بجامعة القصيم. وتم تقييم كل من: المظهر الخارجي، الطعم، الرائحة، قوام اللبابة، لون القشرة والقبول العام. على مقياس من 1 إلى 9 نقاط Hedonic 9 scale، حيث تشير الدرجة 9 إلى أن العينة مقبولة جداً وتشير الدرجة 1 إلى أنها غير مقبولة. وذلك كما هو موضح في الجدول رقم (5).

جدول (5): استمارة التقييم الحسي لعينات الخبز المحتوية على نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري.

الصفة والدرجة						رقم
المظهر الخارجي (9)	الطعم (9)	الرائحة (9)	قوام اللبابة (9)	لون القشرة (9)	القبول العام (9)	العينة
						482
						953
						364
						725

5-2-3 تقدير اللون لعينات خبز القوالب:

تم تقدير لون القشرة الخارجية واللبابة الداخلية لعينات الخبز المحتوية على نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري باستخدام جهاز مقياس الألوان Hunter Lab الموضح في الشكل رقم (6)، طبقاً للطريقة الموضحة في (AACC, 2000). وذلك بالتحويل الإلكتروني لمحاور X_1, X_2, Y, Z إلى إحداثيات ألوان L^*, a^*, b^* . حيث يعبر الرمز L^* عن درجة اللمعان وتتراوح قيمته من 0 (امتصاص الضوء كاملاً وبالتالي يكون لون أسود تام)، ثم 50 (اللون الرمادي) ويصل إلى 100 (انعكاس الضوء كاملاً وبالتالي لون أبيض ولمعان تام)، ويعبر الرمز a^* عن درجة احمرار العينة وتكون درجاته من (-60) للون الأخضر إلى (+60) للون الأحمر، بينما الرمز b^* يعبر عن درجة اصفرار العينة وتكون قيمته من (-60) للون الأزرق إلى (+60) للون الأصفر.



الشكل (6): جهاز تقدير اللون لعينات الخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري.

3-2-6 تقدير المحتوى الرطوبي لعينات خبز القوالب:

تم تقدير المحتوى الرطوبي لعينات خبز القوالب المحتوية على الكيتوزان الفطري والمخزنة على درجة حرارة الغرفة في اليوم 1 و3 و5 من التخزين، حيث أنه تم تقدير محتوى الرطوبة عن طريق تجفيف وزن 10 جم من عينات الخبز في الفرن على درجة حرارة 105°م لمدة 3 ساعات أو حتى ثبات الوزن كما في الشكل رقم (7)، كما هو مذكور في (AACC, 2000). كما تم حساب معدل الفقد في الرطوبة بإتباع المعادلة التالية:

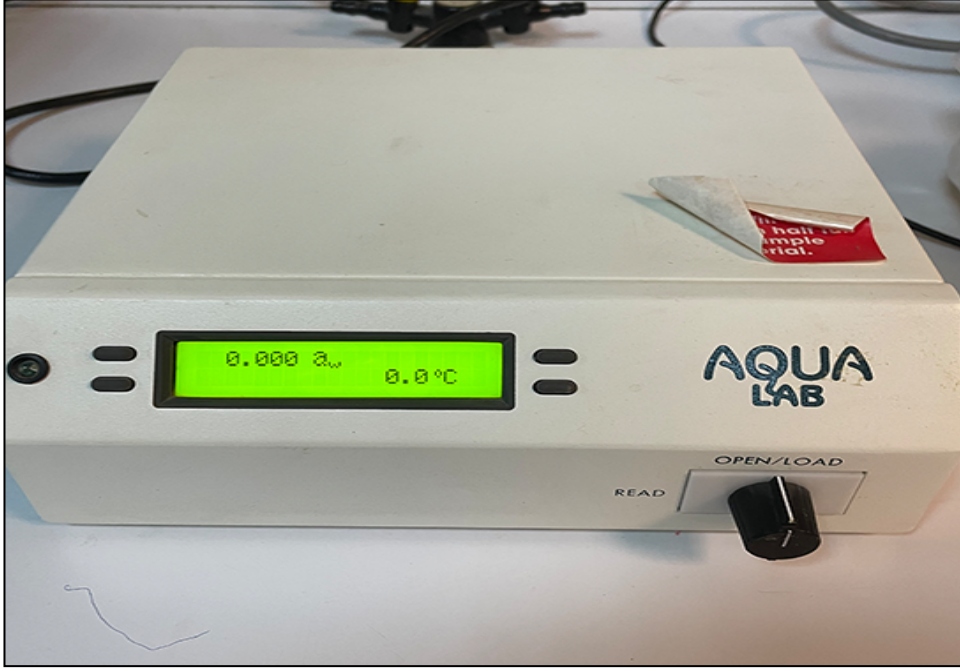
$$\text{معدل الفقد في الرطوبة} = \frac{\text{المحتوى الرطوبي في اليوم الأول} - \text{المحتوى الرطوبي في اليوم الخامس}}{\text{المحتوى الرطوبي في اليوم الأول}} \times 100$$



الشكل (7): الفرن المستعمل في تقدير المحتوى الرطوبي لعينات خبز القوالب.

3-2-7 تقدير النشاط المائي لعينات خبز القوالب:

تم تقدير النشاط المائي (a_w) لعينات خبز القوالب المحتوية على الكيتوزان الفطري والمخزنة على درجة حرارة الغرفة في اليوم 1 و3 و5 من التخزين، بواسطة جهاز AquaLab الظاهر في الشكل رقم (8)، وذلك حسب الطريقة المذكورة في (AACC, 2000).



الشكل (8): جهاز AquaLab المستعمل في تقدير النشاط المائي لعينات خبز القوالب.

3-2-8 تحليل القوام لعينات خبز القوالب:

تم تقدير صفة القوام Firmenss لعينات الخبز المخزنة على درجة حرارة الغرفة في اليوم 1 و 3 و 5 بعد التصنيع، وذلك للدلالة على معدل التجلد الذي يحدث في الخبز خلال فترة التخزين، وذلك باستخدام جهاز محلل القوام من نوع -Texture analyzer TA-XT- (Plus (Stable Microsystems, UK)، وفقاً للطريقة (74-09.01) المذكورة في (AACC, 1999)، وقد عرفت هذه الطريقة الصلابة Firmenss على أنها: القوة (جم) المطلوبة لضغط المنتج بمسافة محددة مسبقاً. وقد استعملت خلية التحميل 5 كغ، ومسبار P/25، والذي يضغط على العينة بنسبة 40% من ارتفاعها. وقد تم تقطيع شرائح الخبز بسمك 25 مم يدويًا وأجري الاختبار على شريحة واحدة في كل مرة، لأخذ متوسط 6 قراءات لكل معاملة.

9-2-3 التحليل الميكروبيولوجي لعينات خبز القوالب:

1-9-2-3 تحضير التخفيفات:

تم تحضير التخفيفات بوزن 10 جرام من عينات الخبز وتجنيسه مع 90 مل من محلول التخفيف، وبعد ذلك سحب من التخفيف السابق 1 مل ويضاف إلى 9 مل من محلول التخفيف، وذلك لتحضير التخفيفات التسلسلية من 10^{-1} وحتى 10^{-6} ، ثم صب 1 مل من كل تخفيف على سطح طبق بتري باستخدام طريقة صب الأطباق في اليوم 1 و3 و5 من الخبز، وفقاً للطريقة المذكورة في (Harrigan & McCance, 1976).

2-9-2-3 عد الخمائر والفطريات:

تم إجراء عد الخمائر والفطريات كالتالي: بصب 1 مل من التخفيف الثاني والثالث لعينة الخبز في طبق بتري متبوع بإضافة 15-20 مل من بيئة Yeast Mold Agar. ثم بعد ذلك تم تحضين أطباق بتري عند 25 °م لمدة 3-7 أيام.

3-9-2-3 عد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم:

تم تقدير أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم وفقاً لطريقة (Frank and Yousef, 2004; Watterson et al., 2014) حيث رفعت درجة حرارة الأنبوب المحتوية على التخفيف الأول والثاني إلى 80 °م لمدة 10 دقائق في حمام مائي والتبريد السريع. ثم صب 1 مل من تخفيف عينة الخبز في طبق بتري متبوع بإضافة 15-20 مل من بيئة Nutrient Agar، ثم التحضين لأطباق بتري مقلوبة على درجة حرارة 30 °م لمدة 48 ساعة، تبع ذلك تسجيل أعداد المستعمرات النامية.

4-9-2-3 العد الكلي للبكتيريا:

تم إجراء العد الكلي للبكتيريا كالتالي: صب 1 مل من التخفيف الرابع والخامس والسادس لعينة الخبز في طبق بتري متبوع بإضافة 15-20 مل من بيئة Nutrient Agar. وحضنت أطباق بتري مقلوبة على درجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة.

3-2-10 الفحص البصري لعينات خبز القوالب:

أُجري الفحص البصري لعينات خبز القوالب خلال فترة التخزين حيث خزنت شرائح من عينات الخبز في أكياس بلاستيكية على درجة حرارة الغرفة ($22 \pm 3^\circ\text{C}$)، وسجلت الملاحظات عن حالة النمو الفطري وظهور العفن على سطح شرائح الخبز خلال فترة التخزين وحتى اليوم السابع.

3-2-11 التحليل الإحصائي:

تم إجراء التحليل الإحصائي للنتائج المتحصل عليها بواسطة برنامج التحليل الإحصائي (IBM SPSS Statistics 27)، بواقع ثلاث مكررات لكل معاملة، ماعدا اختبار التقييم الحسي والذي احتوى على 17 تكرار، واختبار تقدير القوام المتكون من 6 مكررات. وتم تحليل البيانات المتحصل عليها باستخدام اختبار ANOVA one-way و two-way ANOVA في اختبارات التخزين، وأُجري توكي كاختبار لاحق (Tukey post hoc test) عند مستوى معنوية ($p \leq 0.05$).

الباب الرابع

النتائج والمناقشات

Results & Discussions

4- النتائج والمناقشات

1-4 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على الصفات الطبيعية لخبز القوالب:

تشير نتائج الجدول رقم (6) والأشكال رقم (9-10-11) إلى الصفات الطبيعية (الوزن - الحجم - الحجم النوعي) لعينات خبز القوالب المحتوية على نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري (0.5، 1 و 1.5%) وذلك مقارنة بالعينة الضابطة.

بالنظر إلى التحليل الإحصائي لصفة الوزن في الجدول رقم (6) يلاحظ عدم وجود فروق معنوية بين قيم الوزن لجميع المعاملات تحت الدراسة ($p > 0.05$)، وقد سجلت العينة الضابطة أقل قيمة للوزن عند (156.65 جم)، أما متوسطات قيم الوزن في عينات الخبز المحتوية على الكيتوزان الفطري بالنسب (0.5، 1 و 1.5%) فقد كانت (159.68، 160.74 و 160.50 جم) على التوالي.

بينما يلاحظ من النتائج وجود فروق معنوية في قيم الحجم ($p \leq 0.05$) بين عينة الخبز الضابطة وعينات الخبز المحتوية على نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري، فقد سجلت العينة الضابطة أعلى قيمة للحجم (514.33 سم³) مقارنة بباقي العينات تحت الدراسة، بينما سجلت عينات الخبز المحتوية على الكيتوزان بالنسب (0.5، 1 و 1.5%) تناقصًا بقيم الحجم مع زيادة نسبة الكيتوزان المضافة، كما أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي في صفة الحجم بين كل من عينات الخبز المحتوية على الكيتوزان بنسبة 0.5 و 1% حيث سجلت (445.33 و 467.00 سم³) على التوالي. وأيضًا عدم وجود فرق معنوي بين عينات الخبز المحتوية على كيتوزان بنسبة 1 و 1.5% بالقيم (445.33 و 435.00 سم³) على التوالي.

كما أظهرت نتائج التحليل الإحصائي لقيم الحجم النوعي الموضحة بالجدول رقم (6)، أن إضافة الكيتوزان الفطري أدت إلى انخفاض معنوي في الحجم النوعي للخبز المضاف إليه الكيتوزان مقارنة بالعينة الضابطة ($p \leq 0.05$)، وتبعث قيم الحجم النوعي نفس النمط في الحجم، حيث سجلت عينة الخبز الضابطة أعلى قيمة في الحجم النوعي (3.28 سم³/جم). بينما أظهرت النتائج عدم وجود فرق معنوي في قيم الحجم النوعي بين عينات الخبز المحتوية على الكيتوزان بنسبة 0.5 و 1% حيث سجلت (2.92، 2.77 سم³/جم) على التوالي. وأيضًا

عدم وجود فرق معنوي بين عينات الخبز المحتوية على كيتوزان بنسبة 1 و 1.5% بالقيم (2.77 و 2.71 سم³/جم) على التوالي.

قد يعود هذا الانخفاض في الحجم والحجم النوعي لتأثير الكيتوزان كمادة مضادة للأحياء الدقيقة على نشاط الخميرة إلا أن هذا التأثير لم يمنع نمو الخميرة بشكل كبير نظرًا لقصر وقت التخمير الفعلي وانخفاض نسبة الكيتوزان المضافة. ففي دراسة أجراها (Lee et al., 2002b) لفهم تأثير الكيتوزان المثبط على عدد من الأحياء الدقيقة ومنها الخميرة *Saccharomyces cerevisiae* نتج عنها بدأ التأثير المثبط للكيتوزان بالوزن الجزيئي 30 KDa في الظهور بعد 3 ساعات من التحضين، بينما ظهر التأثير المثبط لنمو الخميرة في الكيتوزان 120 KDa ولكن بدرجة منخفضة، وعليه أعتقد الباحثون أن الكيتوزان لن يمنع نمو الخميرة بشكل كبير خلال وقت تخمير عجينة الخبز. كذلك ذكرت دراسة (Lafarga et al., 2013) أن استبدال الدقيق بالكيتوزان بنسب < 4% تؤدي إلى تثبيط كامل في نشاط الخميرة، ألا أنه عند خفض نسبة الاستبدال إلى 1% فإن نشاط الخميرة قد انخفض ولم يثبط بشكل كامل. وأيضًا أدى الاستبدال بنسبة 1% إلى انخفاض معنوي في الحجم النوعي للخبز. كذلك ذكرت دراسة (سليمان وآخرون، 2011) أن هذا الانخفاض في الحجم النوعي قد يعود لمقدرة الكيتوزان العالية على الارتباط بالماء، هذا ما يجعله غير متوفر بشكل كاف لتكوين الشبكة الجلوتينية. كذلك يمكن تفسير هذا الانخفاض في الحجم النوعي بتأثير الكيتوزان الذي يعد من الألياف الغذائية ففي دراسة أجراها (Ghoshal and Mehta, 2019) ذكرت بأن الحجم النوعي للخبز سجل انخفاض معنوي عند إضافة الكيتوزان بتركيز < 0.5%، وأن الحجم النوعي تناقص خطيًا مع ازدياد تركيز الكيتوزان المضاف إلى الخبز، وعزى ذلك لتأثير الكيتوزان الذي يعد من الألياف الغذائية والتي قد يكون لها تأثير سلبي على الحجم النوعي للخبز.

يوضح الشكل رقم (13) حدوث إنخفاض في معدل الفقد بالوزن أثناء الخبز عند إضافة الكيتوزان الفطري إلى الخبز، حيث سجلت القيمة الأعلى للفقد بالوزن في العينة الضابطة (7.85%)، وانخفض معدل الفقد عند إضافة 0.5% كيتوزان فطري (6.07%)، وازداد الانخفاض في معدل الفقد بالوزن أثناء الخبز بزيادة النسبة المضافة من الكيتوزان الفطري إلى (1 و 1.5%) حيث كانت لهما قيم الفقد الأقل عند (5.45 و 5.49%) على التوالي. يعد الفقد

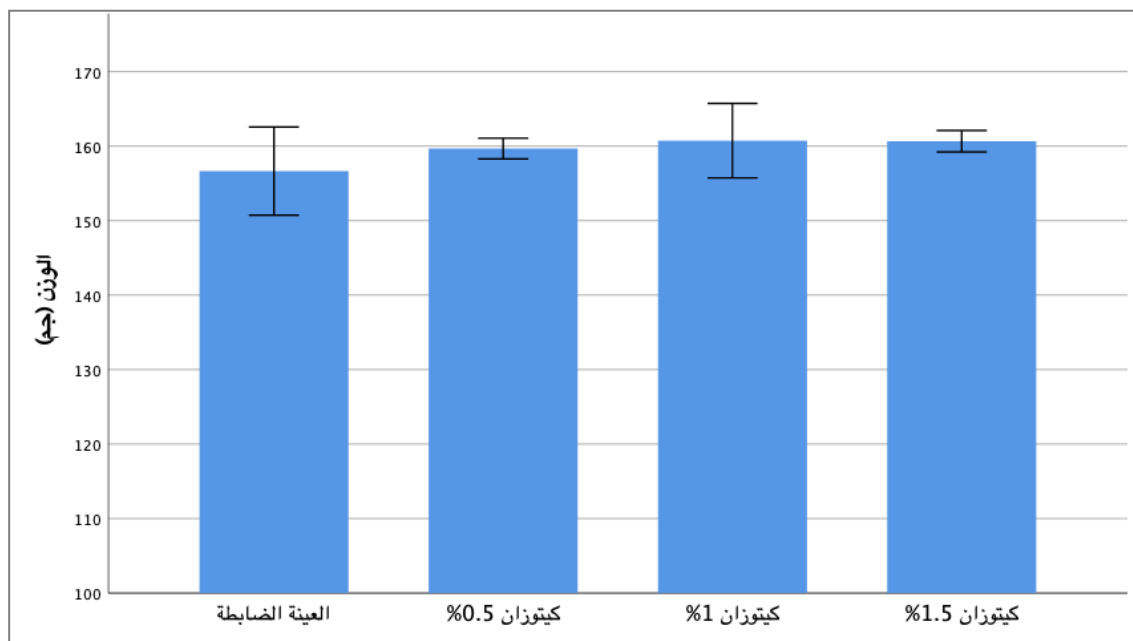
في الوزن أثناء الخبز (Baking loss) صفة مهمة وذات تأثير على وزن وقوام الخبز الناتج، وكذلك معدل تجلده. حيث أن زيادة فقد الماء أثناء الخبز قد تؤدي إلى جفاف قشرة الخبز الناتج، كما أنها قد تسرع من تجلده (Kotoki and Deka, 2010).

جدول (6): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على الصفات الطبيعية لخبز القوالب.

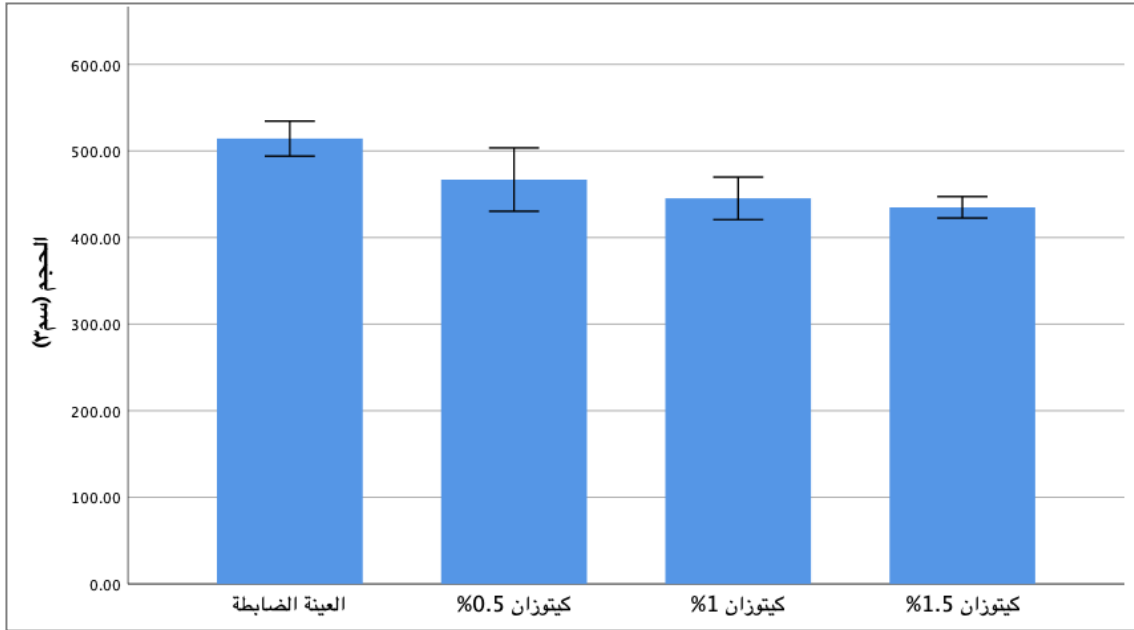
المعاملات	الوزن (جم)	الحجم (سم ³)	الحجم النوعي (سم ³ /جم)
العينة الضابطة	156.65 ± 1.38 ^a	514.33 ± 4.70 ^a	3.28 ± 0.04 ^a
كيتوزان 0.5%	159.68 ± 0.32 ^a	467.00 ± 8.50 ^b	2.92 ± 0.06 ^b
كيتوزان 1.0%	160.74 ± 1.16 ^a	445.33 ± 5.70 ^{bc}	2.77 ± 0.05 ^{bc}
كيتوزان 1.5%	160.50 ± 0.29 ^a	435.00 ± 2.89 ^c	2.71 ± 0.02 ^c

البيانات معبر عنها بالمتوسط ± SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 3

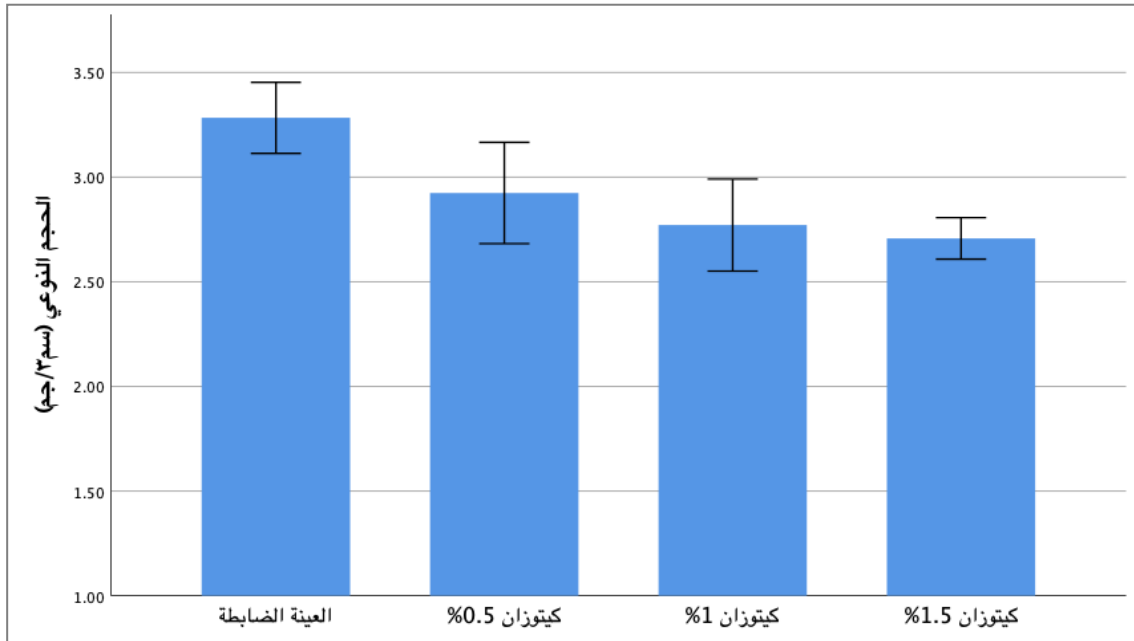
البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).



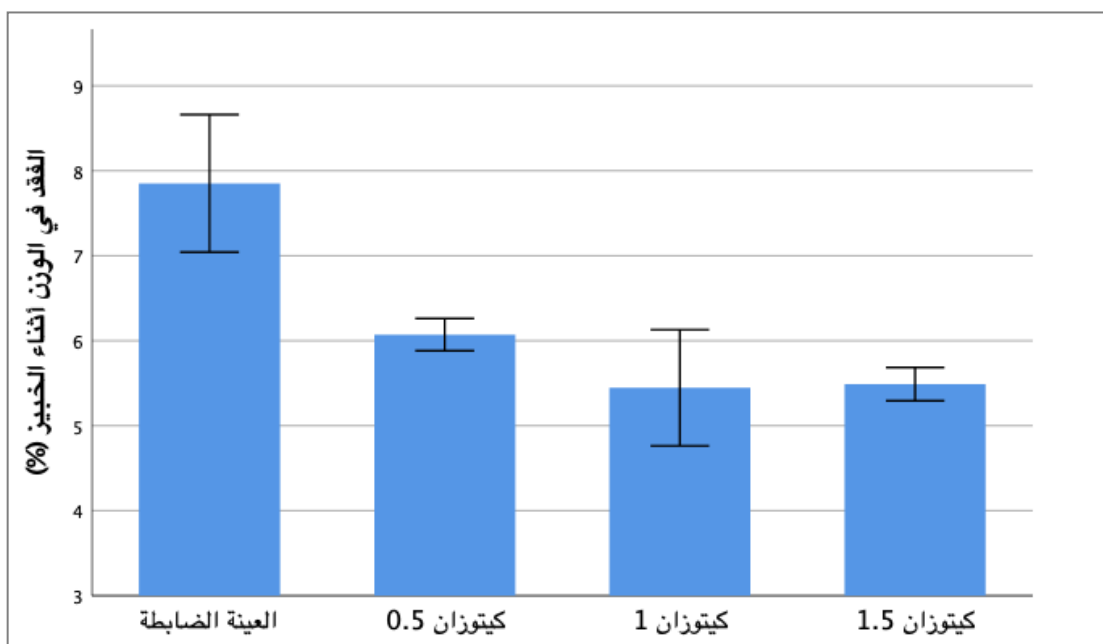
شكل (9): قيم الوزن (جم) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري.



شكل (10): قيم الحجم (سم³) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري.



شكل (12): قيم الحجم النوعي (سم³/جم) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري.



شكل (13): قيم الفقد في الوزن أثناء الخبز (%) للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان الفطري.

4-2 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على التقييم الحسي لخبز القوالب:

يعد التقييم الحسي أحد أكثر المقاييس شيوعًا وأهمية والتي تعطي دلالة قوية ومباشرة في تقييم جودة ومدى قبول المنتجات الغذائية (Elía, 2011). تم إجراء التقييم الحسي لعينات خبز القوالب المحتوية على الكيتوزان الفطري بنسب مختلفة (0.5، 1 و 1.5%)، واشتملت الصفات الحسية للخبز على كل من المظهر العام، الطعم، الرائحة، قوام اللبابة، لون القشرة، والقبول العام للخبز. توضح نتائج التقييم الحسي للخبز المحتوي على نسب من الكيتوزان بالجدول رقم (7) والشكل رقم (14). عدم وجود فروق معنوية ($p > 0.05$) في المظهر العام لأرغفة الخبز في العينة الضابطة وبقية عينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان. وقد سجلت أعلى قيمة للمظهر العام بمقدار (8.47) في عينة خبز الكيتوزان 1.0%، يلي ذلك عينات الخبز الضابطة و0.5% كيتوزان والتي سجلت قيم وقدرها (8.18 و 8.06) على التوالي، وأدنى قيمة (7.66) كانت في العينة المحتوية على نسبة (1.5%) من الكيتوزان.

أما بالنسبة لخاصية الطعم وخاصية الرائحة فأن عينات خبز الكيتوزان لم تظهر فروق معنوية مقارنة بالعينة الضابطة، والتي كانت نتائج الطعم والرائحة لها (8.12 و 8.47) على التوالي، بينما سجلت عينات الخبز المحتوية على الكيتوزان بنسب مختلفة (0.5، 1 و 1.5%) القيم (8.13، 7.95 و 7.54) لصفة الطعم، والقيم (8.24، 8.30 و 7.78) لصفة الرائحة كل على التوالي.

بالنظر إلى القيم في صفة القوام نجد انعدام الفروق المعنوية عند مستوى معنوية ($p > 0.05$) بين عينات الخبز تحت الدراسة، وقد سُجلت أعلى قيمة للقوام عند (8.15) في خبز الكيتوزان 1.0% حيث كانت الأكثر تفضيلاً، ثم تلتها مباشرة العينة الضابطة والتي سجلت قيمة وقدرها (8.14)، وكانت أدنى القيم لصفة القوام عند (7.68 و 7.56) وذلك في العينات المضاف لها الكيتوزان بنسب (0.5 و 1.5%) على التوالي.

أظهر التحكيم الحسي انخفاض في تفضيل لون القشرة الخارجية بزيادة الكمية المضافة من الكيتوزان الفطري إلا أن هذا الانخفاض لم يكن معنوياً في عينات خبز الكيتوزان (0.5 و 1%) واللدان سجلا (8.36 و 8.07) على التوالي، بينما كان الانخفاض معنوياً ($p \leq 0.05$) عند إضافة الكيتوزان للخبز بنسبة 1.5%، حيث سجلت العينة أدنى قيمة (7.72)، مقارنة بالعينة

الضابطة والتي سجلت القيمة الأعلى عند (8.59). ويوضح الشكل رقم (13) صفة لون القشرة الخارجية للمعاملات تحت الدراسة.

لوحظ عدم وجود فروق معنوية في قيم القبول العام بين عينات الكيتوزان الفطري والعينة الضابطة، حيث سجلت العينة الضابطة (8.31) من جانب وباقي العينات المحتوية على نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري (0.5، 1 و 1.5%) والتي سجلت القيم (7.93، 8.19 و 7.69) على التوالي.

أخيراً توضح نتائج التقييم الحسي تفوق العينة الضابطة بمجموع نقاط (49.81)، ثم تبعثها عينة الخبز المضاف إليها الكيتوزان الفطري بالنسبة 1% بمجموع نقاط (49.14)، لتكون الأعلى بمجموع نقاط التقييم الحسي مقارنةً ببقية معاملات الكيتوزان تحت الدراسة. بذلك وبناءً على نتائج التقييم الحسي من قبل المحكمين تستنتج الدراسة أن عينة الخبز المحتوية على نسبة 1% كيتوزان فطري كانت الأعلى قبولاً وتفضيلاً من بين معاملات الكيتوزان الفطري المدروسة. في دراسة أجراها (Ghoshal and Mehta, 2019) للصفات الحسية المتمثلة بالنكهة والطعم وقوام اللبابة وقوام القشرة للخبز المدعم بالكيتوزان أشارت نتائج التقييم الحسي أن العينة الضابطة كانت في المرتبة الأولى من حيث الحجم، والقوام الأكثر ليونة، وتفضيلاً في المذاق. بينما انخفض تفضيل المستهلكين للخبز بزيادة نسبة الكيتوزان المضافة، حيث لوحظ عدم تفضيل المستهلكين للخبز المحتوي على 2% من الكيتوزان، وقد كان الأكثر صلابة في القوام مقارنة بجميع أنواع الخبز تحت الدراسة. وأوصت هذه الدراسة بالخبز المصنوع بإضافة 1% كيتوزان ليكون خياراً أفضل، حيث كان ذو نكهة وطعم جيد ولم يكن شديد الصلابة، ويلي المدخول اليومي من الألياف.



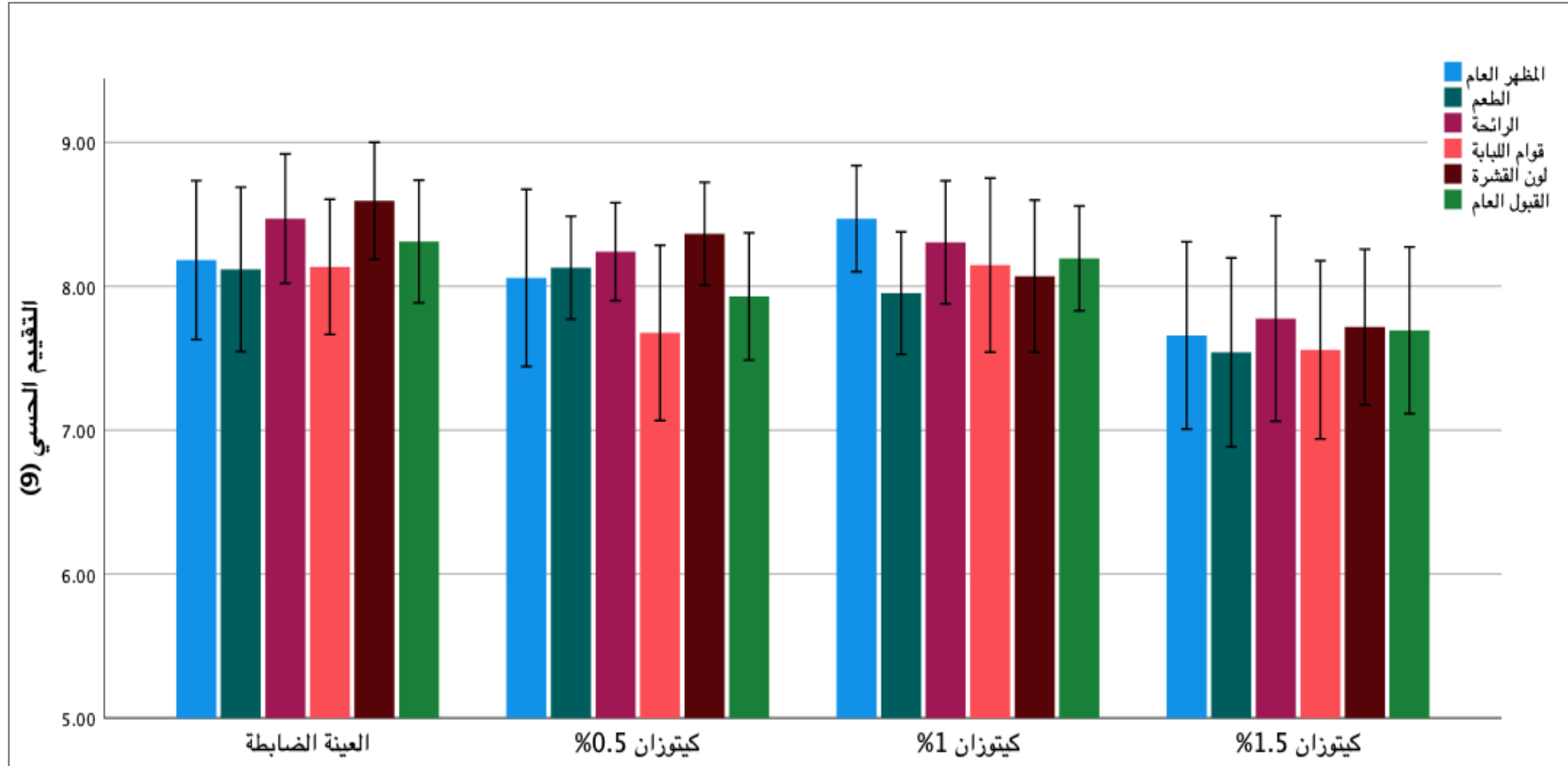
شكل (13): صورة توضح لون القشرة لأرغفة خبز القوالب المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.

جدول (7): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على التقييم الحسي لعينات خبز القوالب.

المعاملات	المظهر العام (9)	الطعم (9)	الرائحة (9)	قوام اللبابة (9)	لون القشرة (9)	القبول العام (9)
العينة الضابطة	8.18 ± 0.26 ^a	8.12 ± 0.27 ^a	8.47 ± 0.21 ^a	8.14 ± 0.22 ^a	8.59 ± 0.19 ^a	8.31 ± 0.20 ^a
كيتوزان 0.5%	8.06 ± 0.29 ^a	8.13 ± 0.17 ^a	8.24 ± 0.16 ^a	7.68 ± 0.29 ^a	8.36 ± 0.17 ^{ab}	7.93 ± 0.20 ^a
كيتوزان 1%	8.47 ± 0.17 ^a	7.95 ± 0.20 ^a	8.30 ± 0.20 ^a	8.15 ± 0.29 ^a	8.07 ± 0.25 ^{ab}	8.19 ± 0.17 ^a
كيتوزان 1.5%	7.66 ± 0.30 ^a	7.54 ± 0.30 ^a	7.78 ± 0.34 ^a	7.56 ± 0.14 ^a	7.72 ± 0.25 ^b	7.69 ± 0.27 ^a

البيانات عبارة عن متوسط \pm SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 17

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).



شكل (14): نتائج التقييم الحسي لعينات للخبز المضاف لها نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري.

3-4 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على لون عينات خبز القوالب:

تم تقدير لون اللبابة الداخلية والقشرة الخارجية لعينات خبز القوالب المضاف لها نسب مختلفة من الكيتوزان (0.5، 1 و 1.5%)، الجدول رقم (8) والأشكال رقم (15)، 16 و (17). أظهرت نتائج قياس اللون في اللبابة الداخلية بالشكل رقم (15) أن القيمة اللونية L^* تناقصت تدريجيًا مع زيادة نسبة الكيتوزان المضافة، حيث سجلت عينات الخبز (0.5، 1 و 1.5%) كيتوزان القيم (73.14، 71.83 و 70.47) على التوالي، بينما كانت أعلى قيمة لها في العينة الضابطة والتي بلغت (76.32)، كما أظهرت النتائج المتحصل عليها من نفس الجدول وجود فروق معنوية عند مستوى معنوية ($p \leq 0.05$) بين جميع المعاملات تحت الدراسة. يوضح الشكل رقم (16) نتائج صفة الاحمرار a^* في اللبابة الداخلية للخبز، فقد كانت العينة الضابطة الأقل احمرارًا مسجلة القيمة الأقل عند (-1.26)، ولم يكن هنالك فرق معنوي بينها وبين عينة الكيتوزان 0.5% والتي كانت قيمتها (-0.81)، وزادت قيمة a^* زيادة معنوية ($p \leq 0.05$) مع زيادة نسبة الكيتوزان، فبلغت قيمة a^* في المعاملة 1% كيتوزان (-0.52)، وفي المعاملة 1.5% كيتوزان (0.23).

تتضح نتيجة صفة الاصفرار b^* في اللبابة الداخلية للخبز بالشكل (17)، سجلت العينة 1.5% كيتوزان أعلى قيمة (18.77)، محدثةً بذلك فرق معنوي عند مستوى معنوية ($p \leq 0.05$) بينها وبين العينة الضابطة والتي سجلت القيمة الأقل عند (17.16)، بينما لم يكن هنالك فروق معنوية بين العينة الضابطة وعينات الكيتوزان بالنسب 0.5 و 1% والتي كانت قيمها (17.35 و 18.19) على التوالي.

أما بالنسبة لنتائج قياس اللون في القشرة الخارجية وتحديدًا القيمة اللونية L^* الدالة على اللمعان كما في الشكل رقم (15)، كانت القيمة الأعلى في العينة الضابطة عند (42.53)، ثم انخفضت انخفاض غير معنوي في العينة 0.5% كيتوزان وكانت قيمتها (40.78)، ثم ازدادت القشرة الخارجية اسمرًا بزيادة نسبة الكيتوزان، وبذلك تظهر فروق معنوية بينهما وبين العينات المضاف لها الكيتوزان بالنسب (1 و 1.5%)، والتي سجلت قيم وقدرها (36.81 و 27.89) على التوالي.

وبالنسبة لنتائج (a^*) احمرار القشرة الخارجية للخبز الواضحة في الشكل رقم (16)، فقد سجلت قشرة العينة الضابطة القيمة (12.99) كما لوحظ عدم وجود فروق معنوية بين العينة الضابطة وعينات الكيتوزان بالنسب (0.5 و 1%) والتي سجلت القيم (12.93 و 13.19) على التوالي، ثم انخفضت قيمة a^* انخفاضاً معنوياً ($p \leq 0.05$) عند إضافة الكيتوزان بنسبة 1.5% والتي سجلت القيمة الأقل احمراراً عند (11.56).

وبالنسبة لاصفرار (b^*) القشرة الخارجية للخبز الشكل (17)، فقد أظهرت النتائج حدوث انخفاض معنوي ($p \leq 0.05$) في عينة الكيتوزان 1.5% والتي بلغت (14.90) محدثاً بذلك فرق معنوي بينها وبين جميع المعاملات تحت الدراسة. وتبين من التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين العينة الضابطة وبقية عينات الكيتوزان (0.5 و 1%) والتي بلغت قيمها (22.27، 23.60 و 22.10) على التوالي.

أشارت الدراسة التي اجراها (Lafarga et al., 2013) إلى أن الصفة اللونية L^* انخفضت داخل لبابة الخبز عند إضافة الكيتوزان بنسبة 1% مقارنة بالعينة الضابطة، بينما لم يكن هناك تأثير لإضافة الكيتوزان على لون القشرة الخارجية في الخبز.

وكانت نتائج دراسة (Lee et al., 2002a) التي درست تأثير إضافة الكيتوزان بأوزان جزيئية مختلفة (1، 5، 30 و 120 KDa) بالتركيز 0.1% على قيم اللون في قشرة ولبابة الخبز، توضح حدوث تغير في اللون بفعل إضافة الكيتوزان، فقد كانت قيمة L^* لقشرة الخبز أعلى قليلاً عند إضافة الكيتوزان بوزن جزيئي حوالي 1 kDa مقارنة بالعينة الضابطة. بينما كانت مشابهة تقريباً عند إضافة الكيتوزان بوزن جزيئي حوالي 30 kDa، وسجلت قيم L^* انخفاضاً مع زيادة الوزن الجزيئي للكيتوزان مقارنة بالضابطة، وأظهرت قيم لون القشرة a^* و b^* ميلاً لقيمة L^* . بينما انخفضت قيمة L^* في اللبابة الداخلية عند إضافة الكيتوزان بجميع الأوزان الجزيئية، وارتفعت القيمة a^* عند إضافته بالوزن الجزيئي 120 kDa، وانخفضت قيمة b^* قليلاً عند إضافة الكيتوزان بالأوزان الجزيئية حوالي (5، 30 و 120 KDa).

قد يفسر تغير لون لبابة الخبز تأثير الكيتوزان السليبي بكونه مادة مضادة للأحياء الدقيقة على عملية التخمر، وما ذكرته دراسة (Rakcejeva et al., 2011) عن تأثير الكيتوزان على عملية التخمر في إبقاء المزيد من السكريات المختزلة في العجين عند إضافة الكيتوزان،

وذلك ما يجعلها تتفاعل بدورها مع الأحماض الأمينية والبروتينات مؤدية إلى زيادة معدل حدوث تفاعل ميلارد.

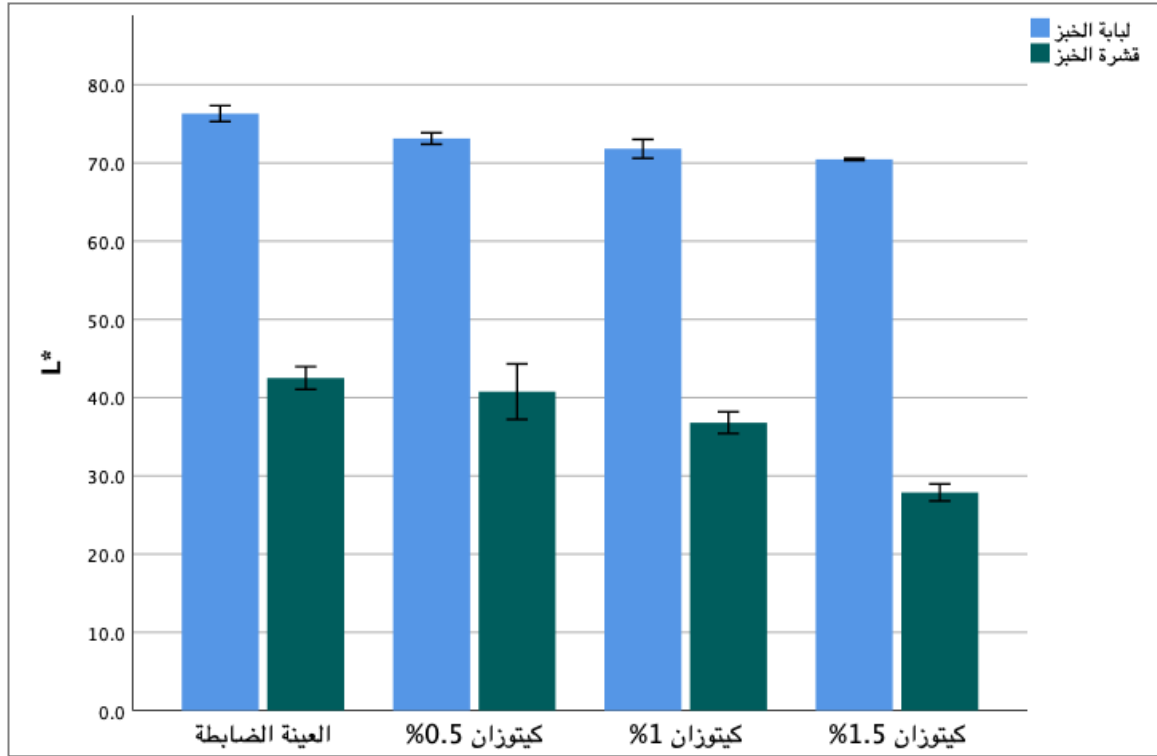
كذلك قد يفسر نتائج اللون في القشرة ما ذكرته دراسة (Kerch et al., 2010) والتي أظهرت تأثير القشرة الخارجية في الخبز بسبب إضافة الكيتوزان، حيث تكونت قشرة ذات لون أعمق وأكثر بنية، وأن هذا قد يكون بسبب زيادة كثافة تفاعل ميلارد، فقد نتج عن وجود الكيتوزان و أوليجوسكريدات الكيتوزان محتوى رطوبي أعلى في القشرة، مما قد يساهم في زيادة كثافة تفاعل ميلارد ودكانة لون القشرة. أيضاً ذكر الباحثون أنه بذلك قد يجمع خبز الكيتوزان بين الخصائص المفيدة والمعززة للصحة بالكيتوزان، وبين الخصائص المعززة للصحة لبعض نواتج تفاعل ميلارد المختلفة (مضادة للأكسدة وذات نشاط مضاد للبكتيريا ومحتوى أعلى لمضادات الأكسدة في القشرة).

جدول (8): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على لون عينات خبز القوالب.

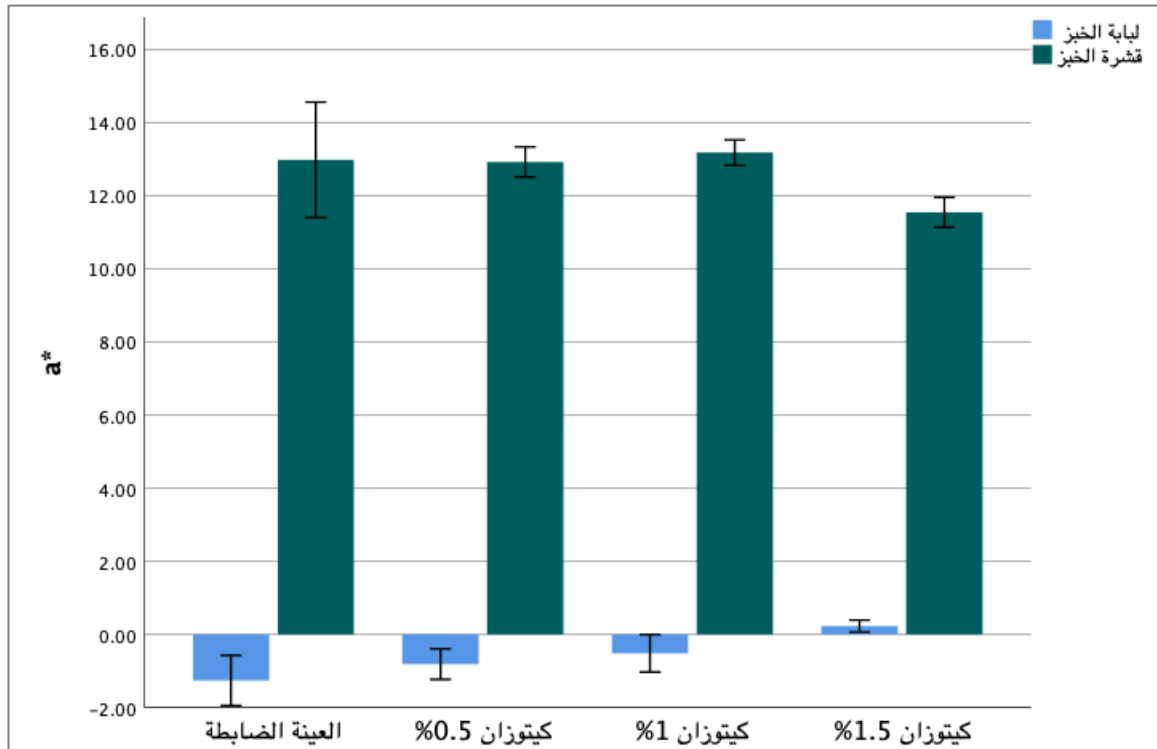
قيم لون قشرة الخبز			قيم لون لبابة الخبز			المعاملات
L*	a*	b*	L*	a*	b*	
42.53 ± 0.34 ^a	12.99 ± 0.37 ^a	22.27 ± 0.34 ^a	76.32 ± 0.24 ^a	-1.26 ± 0.16 ^c	17.16 ± 0.17 ^b	العينة الضابطة
40.78 ± 0.83 ^a	12.93 ± 0.10 ^a	23.61 ± 0.15 ^a	73.14 ± 0.17 ^b	-0.81 ± 0.10 ^{bc}	17.35 ± 0.26 ^b	كيتوزان 0.5%
36.81 ± 0.32 ^b	13.19 ± 0.08 ^a	22.1 ± 0.89 ^a	71.83 ± 0.28 ^c	-0.52 ± 0.12 ^b	18.19 ± 0.32 ^{ab}	كيتوزان 1%
27.89 ± 0.25 ^c	11.56 ± 0.09 ^b	14.96 ± 0.15 ^b	70.47 ± 0.32 ^d	0.23 ± 0.04 ^a	18.77 ± 0.33 ^a	كيتوزان 1.5%

البيانات عبارة عن متوسط ±SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 3

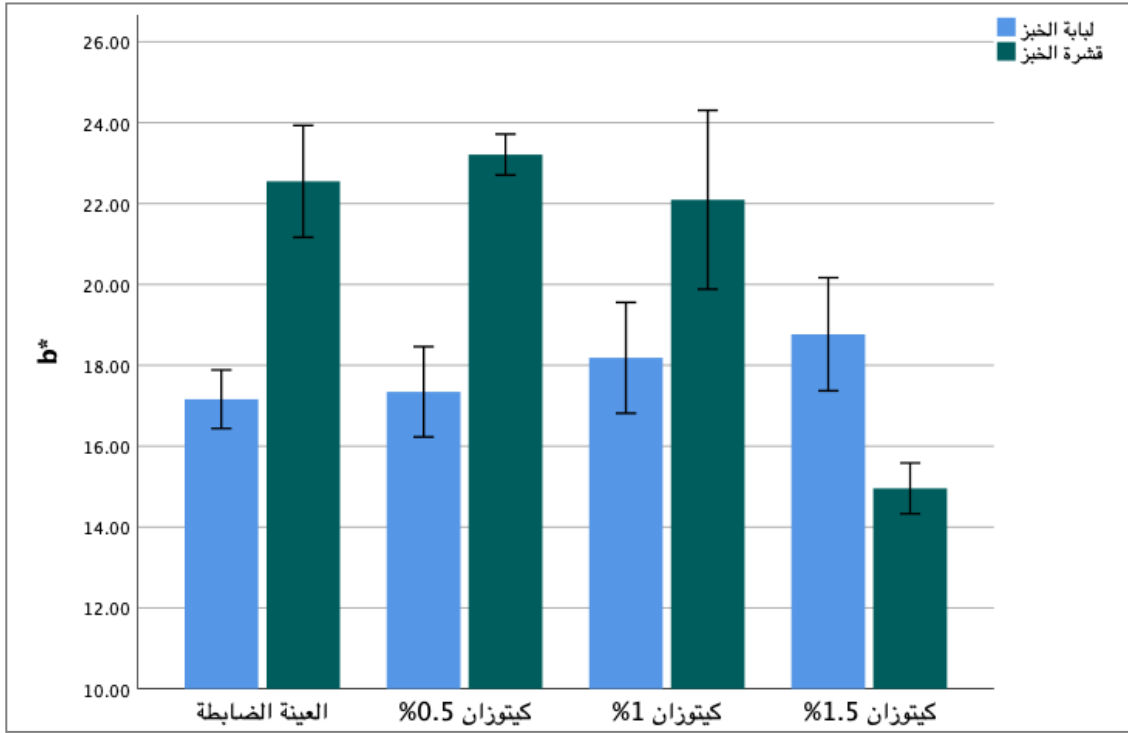
البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).



الشكل (15): درجة اللمعان (Lightness) في عينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.



الشكل (16): درجة الاحمرار (Redness) في عينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.



الشكل (17): درجة الاصفرار (Yellowness) في عينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.

4-4 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على المحتوى الرطوبي لحبز القوالب:

يعتبر المحتوى الرطوبي من المعايير الهامة في تحديد جودة الخبز، فقد تم دراسة تأثير إضافة نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري (0.5، 1 و 1.5%) على المحتوى الرطوبي لحبز القوالب مقارنة بالعينة الضابطة، خلال اليوم الأول والثالث والخامس من التخزين في الجو العادي.

الجدول رقم (9) والأشكال رقم (18-19) يوضحان أهم التغيرات في المحتوى الرطوبي لمعاملات الخبز تحت الدراسة، حيث سجلت معاملة الكيتوزان 1% القيمة الأعلى لمحتوى الرطوبة عند (36.38%) ثم تلتها معاملة الكيتوزان 1.5% بقيمة (36.23%) والقيم الأقل لمحتوى الرطوبة كانت في معاملة الكيتوزان 0.5% والعينة الضابطة بالنتائج (35.68 و 35.64%) على التوالي، إلا أن الفروق في اليوم الأول بعد التصنيع لم تكن معنوية ($p > 0.05$).

كذلك في اليوم الثالث بعد التصنيع تبعت نتائج محتوى الرطوبة نفس النمط (كيتوزان 1%)، كيتوزان 1.5%، كيتوزان 0.5%، الضابطة) بالقيم (36.01، 35.73، 35.09 و 35.05%) على التوالي، ولم تسجل فروق معنوية بين المعاملات تحت الدراسة في ذلك اليوم. هذا يوافق النتائج التي تحصل عليها (Lafarga et al., 2013) والتي تظهر عدم وجود فروق معنوية في محتوى الرطوبة عند استبدال 1% من الدقيق بالكيتوزان مقارنة بالعينة الضابطة.

أما في اليوم الخامس من التخزين فقد لوحظ انخفاض في المحتوى الرطوبي للعينة الضابطة وكيتوزان 0.5% إلى (34.57 و 34.72%) على التوالي، محدثاً بذلك فروقاً معنوية ($p \leq 0.05$) بينها وبين العينات المحتوية على كيتوزان 1 و 1.5% بالقيم (35.88 و 35.53%) على التوالي.

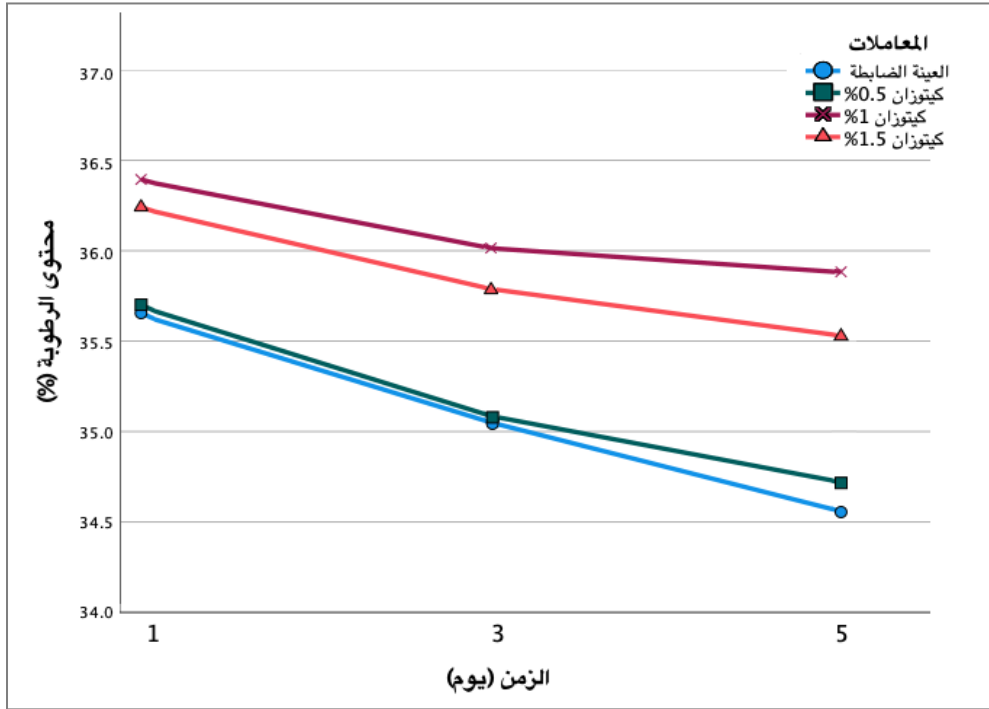
كما أظهرت النتائج حدوث انخفاض في معدل الفقد في الرطوبة عند زيادة النسبة المضافة من الكيتوزان كما هو موضح بالشكل رقم (15). حيث سجلت العينة الضابطة أعلى قيمة لمعدل فقد الرطوبة عند (3.00%)، ثم تبعثها عينة الخبز المحتوية على الكيتوزان بالنسبة (0.5%) بالقيمة (2.69%)، وكانت العينات المضاف لها الكيتوزان بالنسب (1 و 1.5%)، والتي سجلت قيم وقدرها (1.37 و 1.93%) على التوالي الأقل في معدل فقد الرطوبة.

قد يفسر ذلك ما ذكره الباحث (Kim, 2004) عن فعالية إضافة الكيتوزان وأوليغوسكريدات الكيتوزان (COS) في خفض معدل فقد الرطوبة للخبز خلال التخزين مقارنة بالعينة الضابطة، والتي أظهرت فقدان أكبر للرطوبة عند اليوم السابع، بينما كان معدل فقد الرطوبة أقل في معاملات الكيتوزان بهذا الترتيب: COS 1% ويليها 3%، 1%، 0.1% من الكيتوزان، ولذلك يعتقد الباحث أن هذه الظاهرة ناتجة عن القدرة العالية للكيتوزان وCOS على الاحتفاظ بالرطوبة، وأن هذه القدرة قد تؤدي لتأخير تجلد الخبز، مما قد يطيل من فترة التخزين.

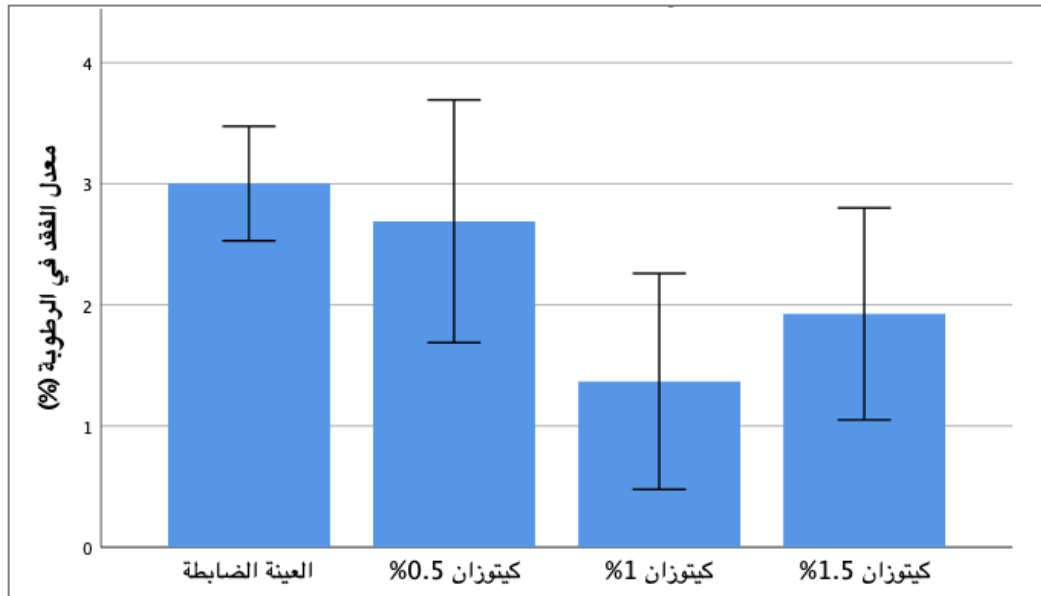
جدول (9): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على المحتوى الرطوبي لخبز القوالب.

المحتوى الرطوبي (%)			المعاملات
اليوم الخامس	اليوم الثالث	اليوم الأول	
34.57 ± 0.15 ^{bA}	35.05 ± 0.33 ^{aA}	35.64 ± 0.33 ^{aA}	العينة الضابطة
34.72 ± 0.11 ^{bA}	35.09 ± 0.47 ^{aA}	35.68 ± 0.47 ^{aA}	كيتوزان 0.5%
35.88 ± 0.18 ^{aA}	36.01 ± 0.50 ^{aA}	36.38 ± 0.50 ^{aA}	كيتوزان 1%
35.53 ± 0.05 ^{aA}	35.73 ± 0.12 ^{aA}	36.23 ± 0.30 ^{aA}	كيتوزان 1.5%

البيانات معبر عنها بالمتوسط ± SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 3
البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).
البيانات المتبوعة بنفس الحروف الكبيرة داخل نفس الصف لا يوجد بينهم اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).



الشكل (18): نتائج محتوى الرطوبة (%) لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.



الشكل (19): قيم معدل الفقد في الرطوبة (%) لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.

5-4 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على النشاط المائي لحبز القوالب:

تم دراسة تأثير إضافة نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري (0.5، 1 و 1.5%) على النشاط المائي في خبز القوالب مقارنة بالعينة الضابطة، والذي تم قياسه في درجة حرارة الغرفة (21°م) خلال اليوم 1 و 3 و 5 بعد التصنيع، الجداول رقم (10) والشكل رقم (20).

كانت قيم النشاط المائي للعينة الضابطة الأعلى مقارنة بالخبز المحتوي على الكيتوزان بالنسب (0.5، 1 و 1.5%) في بداية التخزين، إلا أن هذه الزيادة لم تكن ذات دلالة إحصائية ($p > 0.05$). ومع ذلك لوحظ انخفاض معنوي في النشاط المائي للعينة الضابطة بزيادة فترة التخزين، محدثاً بذلك فرق معنوي بين قيم النشاط المائي داخل نفس المعاملة -المعاملة الضابطة- خلال فترة التخزين، فقد بلغت قيم النشاط المائي في اليوم 1 و 3 و 5 للعينة الضابطة (0.953، 0.952 و 0.949) على التوالي، بينما كان انخفاض نشاط المائي في معاملات الكيتوزان لا يذكر، ولم تسجل أي فروق معنوية داخل هذه المعاملات خلال فترة التخزين.

في دراسة قام بها (Lee et al., 2002a) أشارت إلى أن قيم النشاط المائي كانت الأعلى في خبز العينة الضابطة مقارنة بالخبز المحتوي على الكيتوزان عند بداية التخزين. وأن السبب في ذلك يعود إلى قدرة الكيتوزان على الارتباط والاحتفاظ بالماء. وأنه بزيادة فترة التخزين ينخفض النشاط المائي في خبز العينة الضابطة بشكل ملحوظ، بينما كان انخفاض النشاط المائي للخبز مع إضافة كيتوزان أقل. وذكر أيضاً أن هذه القدرة للكيتوزان على الاحتفاظ بالماء قد تكون فعالة في تأخير تجلد الخبز عن طريق الحفاظ على الرطوبة ثابتة أثناء التخزين.

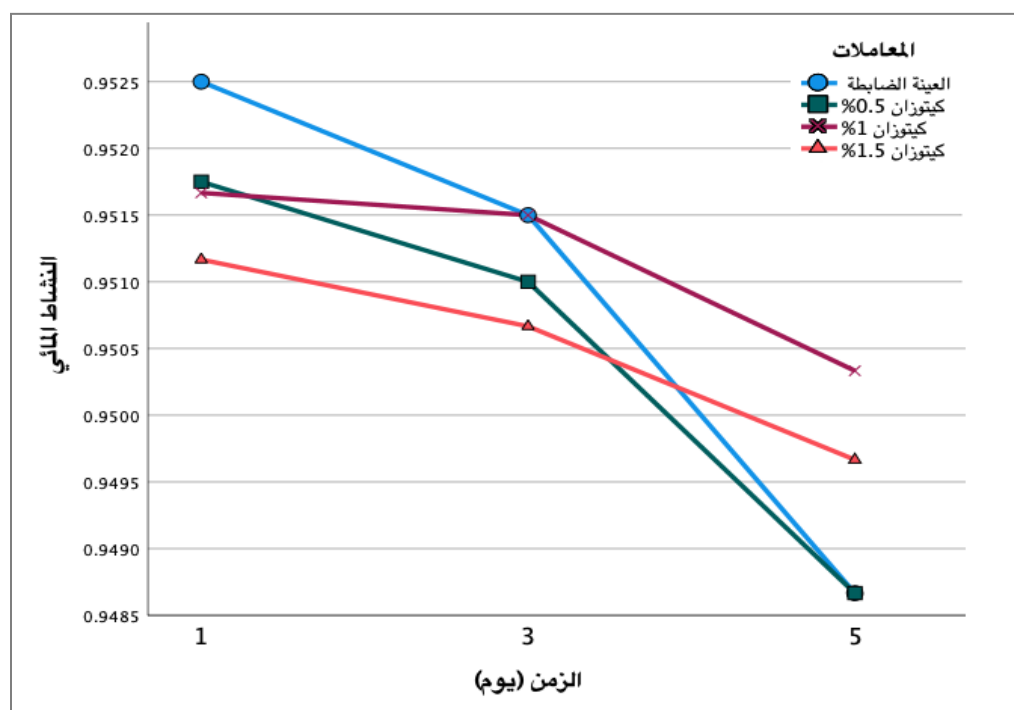
جدول (10): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على النشاط المائي لخبز القوالب.

النشاط المائي			المعاملات
اليوم الخامس	اليوم الثالث	اليوم الأول	
0.949 ± 0.000 aB	0.952 ± 0.001 aA	0.953 ± 0.001 aA	العينة الضابطة
0.949 ± 0.001 aA	0.951 ± 0.001 aA	0.952 ± 0.001 aA	كيتوزان 0.5%
0.950 ± 0.002 aA	0.952 ± 0.001 aA	0.952 ± 0.001 aA	كيتوزان 1%
0.950 ± 0.001 aA	0.951 ± 0.001 aA	0.951 ± 0.001 aA	كيتوزان 1.5%

البيانات معبر عنها بالمتوسط \pm SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 3

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الكبيرة داخل نفس الصف لا يوجد بينهم اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).



الشكل (20): نتائج النشاط المائي لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.

4-6 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري بنسب مختلفة على القوام في خبز القوالب:

تعتبر الصلابة مؤشراً مهماً لتحديد مدة صلاحية الخبز للاستهلاك؛ فصلابة الخبز تتغير خلال فترة التخزين نتيجة لفقدان الطراوة (Ulziijargal et al., 2013). تم تقدير صلابة القوام لعينات خبز القوالب المضاف لها الكيتوزان الفطري ومقارنته بالعينة الضابطة، أثناء التخزين في اليوم 1 و 3 و 5 من التخزين.

تشير النتائج المدونة بالجدول رقم (11) والشكل رقم (21) أن قيم الصلابة في العينة الضابطة كانت الأقل بمتوسط (572.86 جم) في اليوم الأول من التخزين، كما يلاحظ وجود فروق معنوية ($p \leq 0.05$) بين جميع المعاملات تحت الدراسة، حيث سُجلت زيادة في قيم الصلابة مع زيادة النسبة المضافة من الكيتوزان الفطري، قد يفسر ذلك ما استنتج سابقاً أن الحجم في الخبز والصلابة يتناسبان عكسياً (Rogers et al., 1988). ألا أن هذه الزيادة في صلابة عينات خبز الكيتوزان لم تكن ذات تأثير على القبول الحسي لخبز الكيتوزان في جميع نسبه ولم تظهر فروق معنوية بينها وبين العينة الضابطة، كما هو الملاحظ في نتائج التقييم الحسي الجدول رقم (7).

يلاحظ كذلك تقلص هذا الفرق بين المعاملات مع زيادة فترة التخزين والممتدة إلى خمسة أيام، فقد ازدادت الصلابة في العينة الضابطة للخبز بشكل أكبر، بينما كانت درجة التغيير في الصلابة أقل عند إضافة الكيتوزان الفطري، ولم تسجل أي فروق معنوية بين العينة الضابطة ومعاملات الكيتوزان (0.5-1%) في اليوم الخامس من التخزين، وسجلت فروق معنوية بينها وبين 1.5% كيتوزان.

تتوافق هذه النتيجة مع النتائج التي تحصل عليها (Lee et al., 2002a)، حيث ذكرت الدراسة أن إضافة الكيتوزان ذو الوزن الجزيئي العالي يؤثر في قوام الخبز. حيث تزداد صلابة الخبز بزيادة الوزن الجزيئي للكيتوزان المضاف عند بداية التخزين. وكانت درجة التغيير في الصلابة أقل عند إضافة الكيتوزان خاصة بعد 4 أيام، حينها كلما زاد الوزن الجزيئي المضاف للكيتوزان انخفض معدل تغير الصلابة. بينما ازدادت الصلابة في العينة الضابطة بشكل أكبر كلما طالت فترة التخزين. دُكر أنه نتيجة لذلك فإن إضافة الكيتوزان قد تأخر تجلد الخبز إلى حد ما.

بينما تختلف النتائج مع ما ذكره (Ghoshal and Mehta, 2019) حيث أوضحت الدراسة أن صلابة الخبز ازدادت مع زيادة وقت التخزين ومع زيادة نسبة الكيتوزان أيضاً من 0.5% وحتى 2%. وكان الخبز الطازج الخالي من الكيتوزان أكثر ليونة من الخبز الطازج المحتوي على 1 و 1.5% كيتوزان والذي كان أكثر صلابة قليلاً من خبز العينة الضابطة. قد يعود هذا لاختلاف طريقته بإضافة الكيتوزان عن الدراسة الحالية، ذلك كون الباحث أضاف الكيتوزان لدراسة أثره كألياف غذائية، فقد خلط الكيتوزان جافاً مع الدقيق ولم يذوب مسبقاً، أما في الدراسة الحالية وفي دراسة (Lee et al., 2002a) فقد اعتمد تذويب الكيتوزان مسبقاً قبل إضافته إلى العجين.

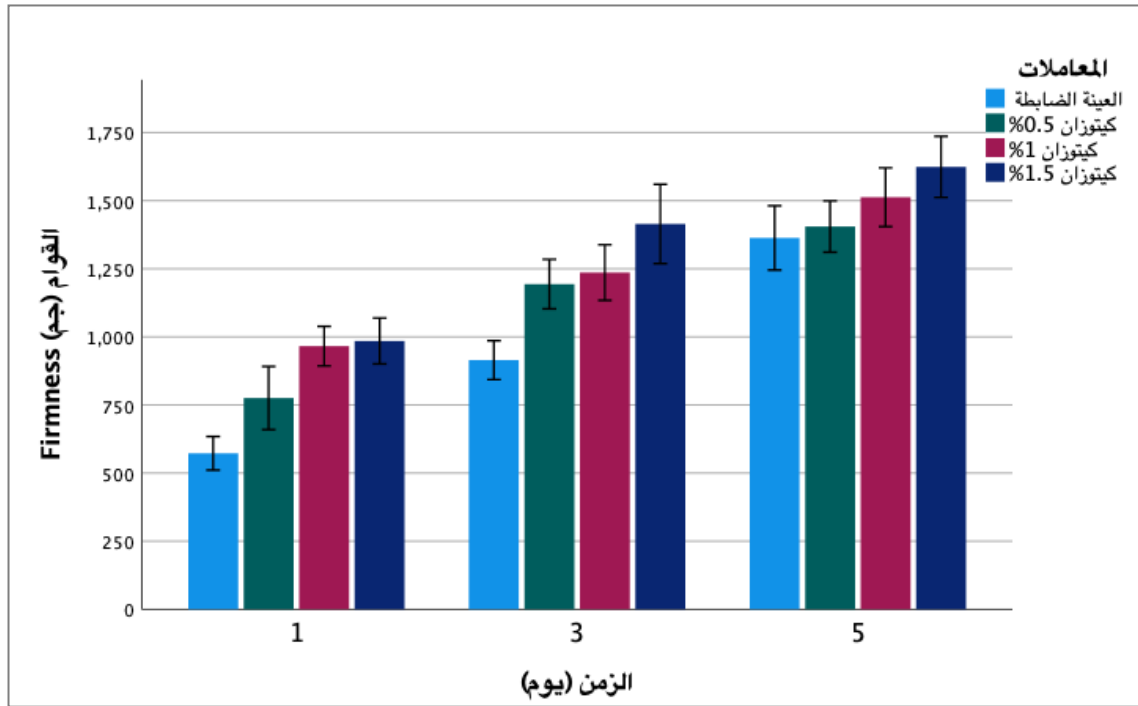
جدول (11): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على القوام (Firmness) لعينات خبز القوالب.

القوام (جم) Firmness			المعاملات
اليوم الخامس	اليوم الثالث	اليوم الأول	
1363.36 ±59.04 ^{ba}	914.89 ±35.66 ^{cb}	572.86 ±30.89 ^{cc}	العينة الضابطة
1405.29 ±47.02 ^{ba}	1194.11 ±45.34 ^{bb}	775.87 ±57.96 ^{bc}	كيتوزان 0.5%
1512.75 ±53.95 ^{abA}	1236.28 ±50.96 ^{abB}	966.37 ±36.40 ^{ac}	كيتوزان 1%
1624.35 ±56.08 ^{aA}	1414.8 ±72.68 ^{aB}	985.53 ±42.13 ^{aB}	كيتوزان 1.5%

البيانات معبر عنها بالمتوسط ± SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 6

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الكبيرة داخل نفس الصف لا يوجد بينهم اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).



الشكل (21): نتائج القوام (جم) Firmness لعينات الخبز المحتوية على نسب من الكيتوزان الفطري.

7-4 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على الجودة الميكروبيولوجية لعينات خبز القوالب:

تم تخزين الخبز المحضر بإضافة الكيتوزان الفطري بالنسب (0.5، 1 و 1.5%)، والخبز المحضر بإضافة بروبيونات الكالسيوم والمستعملة تجاريًا بنسبة (0.3%)، والخبز المحضر بإضافة (0.7%) حمض الأسكوربيك في درجة حرارة الغرفة لمدة خمسة أيام للكشف عن الجودة الميكروبيولوجية عن طريق اختبار تقدير أعداد الخمائر والفطريات، وأعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم، والعد الكلي للبكتيريا مقارنة بالعينة الضابطة.

1-7-4 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على أعداد الخمائر والفطريات في عينات خبز القوالب:

تم إجراء العد الخمائر والفطريات في التخفيف 10^{-2} و 10^{-3} لعينات خبز القوالب تحت الدراسة والمخزنة في درجة حرارة الغرفة ($22 \pm 3^\circ\text{C}$)، لم يظهر أي نمو للفطر والخميرة على أطباق اليوم الأول والثالث والخامس من التخزين، وهذا يتفق مع نتائج الكشف البصري في الجدول رقم (12)، والذي فيه لم يتم رصد أي نمو فطري على سطح شرائح الخبز إلا في اليوم السادس من الملاحظة.

جدول (12): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على أعداد الخمائر والفطريات ($\log \text{cfu/g}$) في عينات خبز القوالب.

أعداد الخمائر والفطريات ($\log \text{cfu/g}$)			المعاملات
اليوم الخامس	اليوم الثالث	اليوم الأول	
ND	ND	ND	العينة الضابطة
ND	ND	ND	حمض الأسكوربيك 0.7%
ND	ND	ND	بروبيونات الكالسيوم 0.3%
ND	ND	ND	كيتوزان 0.5%
ND	ND	ND	كيتوزان 1%
ND	ND	ND	كيتوزان 1.5%

البيانات معبر عنها بالمتوسط \pm SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 3

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الكبيرة داخل نفس الصف لا يوجد بينهم اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).

ND لم تظهر أي نموات حتى التخفيف الثالث

4-7-2 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم في عينات خبز القوالب:

يمكن تتبع تغيرات أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم من الجدول رقم (13) والشكل رقم (22)، يلاحظ عدم وجود فروق معنوية ($p > 0.05$) لأعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم بين المعاملات (معاملة حمض الأسكوربيك والمعاملة الضابطة ومعاملة بروبيونات الكالسيوم) طوال فترة التخزين، وتراوح الأعداد بين ($1 - 2.15 \log \text{cfu/g}$) خلال اليوم الأول والثالث من التخزين على درجة حرارة الغرفة. ولم تسجل أي أعداد للبكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم خلال اليوم الخامس من التخزين في جميع المعاملات تحت الدراسة. قد يكون تفسير هذا الانخفاض في أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم عند اليوم الخامس من التخزين هو أن البيئة أصبحت غير مناسبة للنمو مما يؤدي إلى موت الخلايا الخضرية ولا يمكن لها بذلك التجثثم، حيث أن الهواء داخل بيئة الخبز المغلف بإحكام قد يستهلك مما يمنع البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم من البقاء.

أما بالنسبة للكيتوزان فقد يكون ذو تأثير حافظ ضد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم بجميع تركيزاته تحت الدراسة (0.5، 1 و 1.5%) حيث لم يتم رصد أي نموات خلال فترات التخزين.

تساعد المكونات الخام للخبز على نمو الكائنات الحية الدقيقة وتكاثرها وذلك خلال المراحل المختلفة من إنتاج الخبز ومعالجته وتعبئته وتخزينه. وتعتبر كل من الفطريات والخمائر والبكتيريا من العوامل المسببة للفساد الميكروبيولوجي في الخبز (Cauvain, 2015). تعد البكتيريا الهوائية من جنس *Bacillus* المسبب الرئيسي للفساد البكتيري بالخبز، كما أن لها القدرة على تكوين الجراثيم الداخلية والتي تنجو بسهولة خلال عملية الخبز. تستطيع جراثيم هذه البكتيريا الإنبات و النمو في غضون 36-48 ساعة داخل أرغفة الخبز، لتكون اللون البني والرائحة المميزة برائحة الأناناس بسبب تكون المركبات المتطايرة من ثنائي أسيتيل والأسيتوين والأسيتالدهيد والأيزوفال ألدهيد (Pateras, 1999) وقد تسبب ظهور الخيوط المطاطية في لبابة الخبز، كما تُنتج أيضًا إنزيمات الأميليز والبروتيز المتسببة في تحلل فتات الخبز (Melini and Melini, 2018).

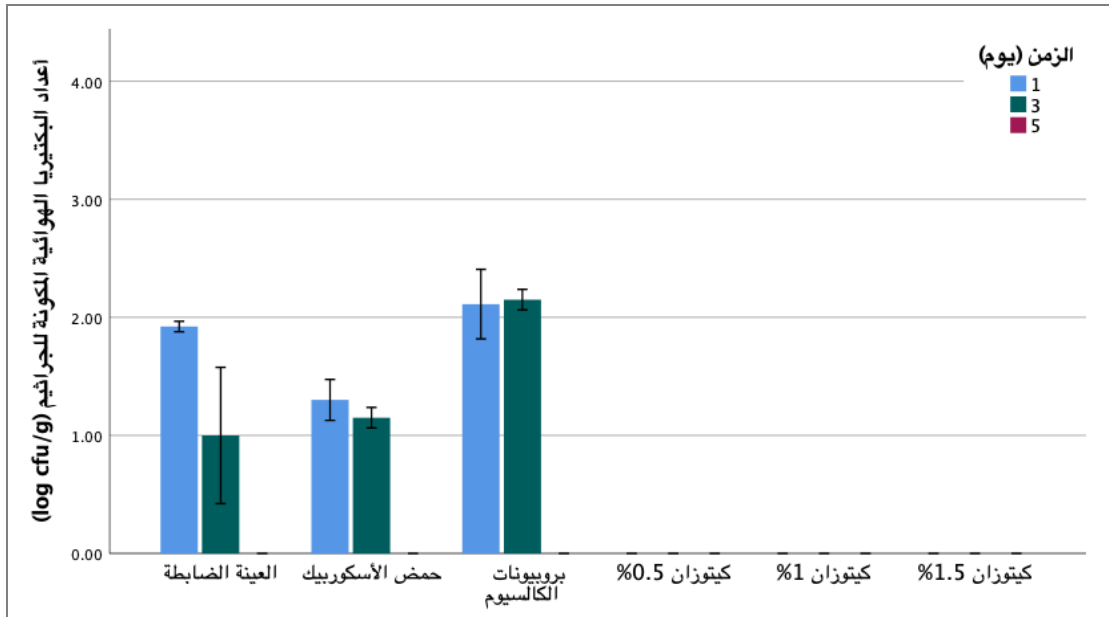
أكدت الدراسة (Rakkhumkaew and Pongsuk, 2018) على بقاء خصائص الكيتوزان وCOS المضادة للميكروبات بعد المعاملة بدرجة حرارة مرتفعة أثناء عملية الخبز، مما يؤدي إلى تمديد فترة صلاحية الخبز، كذلك أثبتت الدراسة تأثير الكيتوزان وCOS بأوزان جزيئية: 650KDa و13KDa المثبط لبكتيريا *B. cereus*، وذلك بتلقيح شرائح الخبز ببكتيريا *B. cereus* والتحصين بأكياس بلاستيكية عند 30 °م لمدة أربعة أيام. بدأت عينة الكيتوزان بتكوين الخيوط ورائحة الفاكهة بعد اليوم 3، مقارنة بالعينة الضابطة والتي كونت خيوطاً ورائحة الفاكهة بعد أول 24 ساعة، بينما ثبتت معاملة COS تكون الخيوط بشكل ملحوظ عند مراقبته على مدى 4 أيام، كذلك أظهرت رائحة فاكهة أقل مقارنةً بخبز الضابطة والكيتوزان. يرى الباحثان أن انخفاض Mw للكيتوزان يجعله مناسباً للتطبيقات المضادة للبكتيريا، وأن انخفاض Mw، وارتفاع DD في COS المستخلص، هو ما أوجد قابلية عالية له على الذوبان، وزاد من تأثيراته المضادة للأحياء الدقيقة مقارنة بالكيتوزان.

وكذلك في دراسة (Lafarga et al. (2013) والتي درست تأثير استبدال 1% من الدقيق بالكيتوزان المستخلص من مخلفات قشور الجمبري بكتلة جزيئية $124000 \pm$ 10000 g/mol، وأثره المضاد للأحياء الدقيقة ضد مسببات الخيوط *Bacillus cereus* في الخبز. لُقحت شرائح الخبز ببكتيريا *B. cereus* وحُضنت في أطباق بتري على درجة حرارة 30 °م. نتج عن ذلك تثبيط لنمو بكتيريا *B. cereus* وتكوين الخيوط على مدار 3 أيام في عينات خبز الكيتوزان، بينما طورت عينات الخبز الضابطة رائحة فاكهة قوية بعد 24 ساعة فقط من التحصين. وكشفت هذه الدراسة عن إمكانية استعمال الكيتوزان المستخرج من قشور الجمبري بتركيز 1% كمكون خبز مضاد للأحياء الدقيقة بدون تأثير كبير على الجودة العامة للخبز أو قبوله.

جدول (13): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم (log cfu/g) في عينات خبز القوالب.

أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم (log cfu/g)			المعاملات
اليوم الخامس	اليوم الثالث	اليوم الأول	
ND	1 ± 0.58 ^{aA}	1.92 ± 0.04 ^{aA}	العينة الضابطة
ND	1.15 ± 0.09 ^{aA}	1.3 ± 0.17 ^{aA}	حمض الأسكوربيك 0.7%
ND	2.15 ± 0.09 ^{aA}	2.11 ± 0.29 ^{aA}	بروبيونات الكالسيوم 0.3%
ND	ND	ND	كيتوزان 0.5%
ND	ND	ND	كيتوزان 1%
ND	ND	ND	كيتوزان 1.5%

البيانات معبر عنها بالمتوسط ± SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 3
البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).
البيانات المتبوعة بنفس الحروف الكبيرة داخل نفس الصف لا يوجد بينهم اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).
ND لم تظهر أي نموات حتى التخفيف الثاني



الشكل (22): أعداد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم (log cfu/g) لعينات الخبز تحت الدراسة.

4-7-3 تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على العد الكلي للبكتيريا في عينات خبز القوالب:

توضح نتائج العد الكلي للبكتيريا زيادة أعداد البكتيريا حتى اليوم الخامس من التخزين على درجة حرارة الغرفة ($22 \pm 3^\circ\text{C}$)، وذلك لكل من العينة الضابطة وعينة الخبز المحتوي على حمض الأسكوربيك الجدول رقم (14) والشكل رقم (23)، حيث كانت الزيادة معنوية ($p \leq 0.05$) فقد بلغت الزيادة في اليوم الخامس للعينة الضابطة ($1.13 \log \text{cfu/g}$)، وللخبز المحتوي على حمض الأسكوربيك ($1.13 \log \text{cfu/g}$)، هذا ما ينفي التأثير الحافظ لحمض الأسكوربيك المستعمل في تدوير الكيتوزان. أما بالنسبة لبروبيونات الكالسيوم فقد كان ذو تأثير حافظ حيث لم يسجل أي مستعمرات في اليوم الأول، وسجل نمو المستعمرات القابلة للحياة في اليوم الثالث عند ($4.93 \log \text{cfu/g}$)، ثم في اليوم الخامس لم يسجل أي نمو، يلاحظ أن اختفاء قيم العد الكلي لا يعني التثبيط الكامل للبكتيريا بفعل بروبيونات الكالسيوم، بل إنه يعني انخفاض الأعداد عن التخفيف الرابع وذلك لأن العد الكلي للبكتيريا في هذه الدراسة تم إجراؤه ابتداءً من التخفيف الرابع. كما قد يفسر هذا الانخفاض في قيم العد الكلي للبكتيريا باليوم الخامس نتائج عد البكتيريا الهوائية المكونة للجراثيم السابق عرضها في الجدول رقم (13).

انخفضت الأعداد الكلية للميكروبات في عينة الخبز المضاف إليها 0.5% كيتوزان باليوم الخامس من التخزين حيث بلغ الانخفاض ($0.68 \log \text{cfu/g}$) وكان الانخفاض معنوي. وازداد التأثير المضاد للبكتيريا بزيادة الكمية المضافة من الكيتوزان الفطري، فقد كان لمعاملتي (1-1.5%) كيتوزان تأثير الحفظ الأكبر، ولم يسجل أي نمو للمستعمرات طوال فترة التخزين الممتدة إلى خمسة أيام.

تتفق هذه النتائج مع دراسات أخرى أفادت بتحسين التأثير الحافظ للكيتوزان على الخبز مع زيادة الكمية المضافة من الكيتوزان، حيث أشارت نتائج دراسة (Kim, 2004) إلى زيادة التأثير المثبط للبكتيريا بازدياد تركيز الكيتوزان من 1% إلى 3%، ولم يظهر التركيز 0.1% كيتوزان فرق معنوي عن العينة الضابطة. وكذلك أيضًا في دراسة أجراها (Lee et al., 2002b) والتي أجريت لدراسة تأثير إضافة الكيتوزان إلى الخبز على العد الكلي للبكتيريا في الخبز، أوضحت الدراسة أنه لم يكن للكيتوزان بالأوزان الجزيئية 1KDa, 5KDa تأثير مثبط على نمو البكتيريا، بينما ظهر التأثير المثبط عند 30KDa و 120KDa، وازداد هذا التأثير

بزيادة التركيز المضاف من الكيتوزان، ولم يسجل عد مستعمرات البكتيريا إلا بعد مرور 4 أيام من التخزين، وتوصلت الدراسة إلى أنه يمكن استعمال الكيتوزان كمادة حافظة للخبز، وأن الأثر المثبط للكيتوزان على الأحياء الدقيقة يزداد بزيادة التركيز المضاف منه، وزيادة الوزن الجزيئي (ضمن مدى الوزن الجزيئي المنخفض للكيتوزان).

جدول (14): تأثير إضافة الكيتوزان الفطري على العد الكلي للبكتيريا ($\log \text{cfu/g}$) في عينات خبز القوالب.

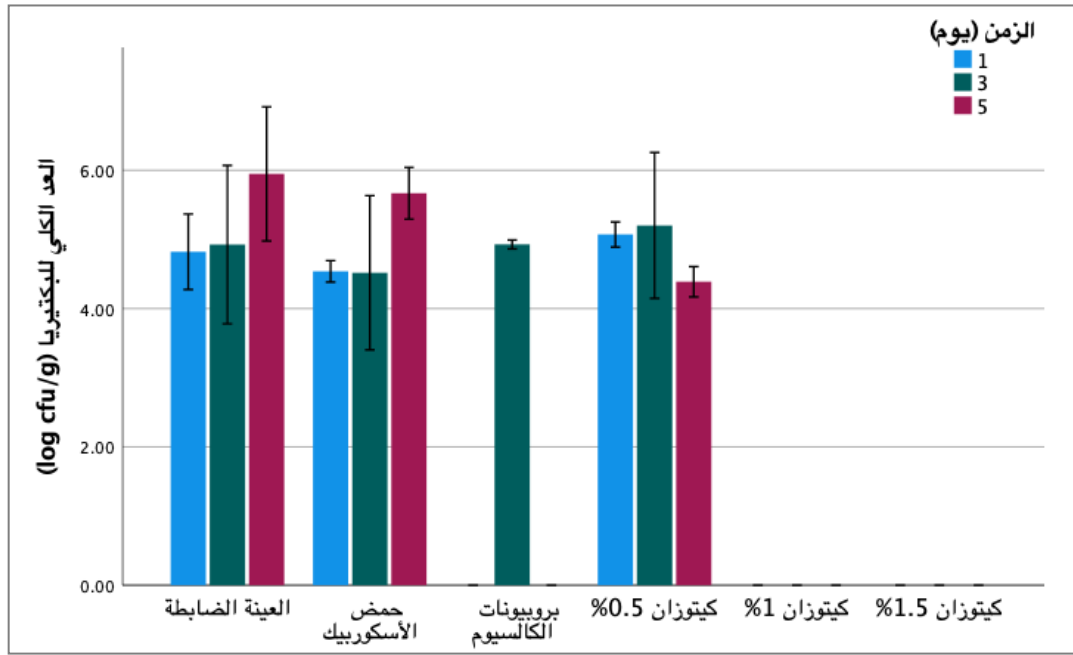
العد الكلي للبكتيريا ($\log \text{cfu/g}$)			المعاملات
اليوم الخامس	اليوم الثالث	اليوم الأول	
5.95 \pm 0.23 ^{aB}	4.93 \pm 0.27 ^{aA}	4.82 \pm 0.13 ^{abA}	العينة الضابطة
5.67 \pm 0.09 ^{aB}	4.52 \pm 0.26 ^{aAB}	4.54 \pm 0.04 ^{bA}	حمض الأسكوربيك 0.7%
ND	4.93 \pm 0.01 ^{aA}	ND	بروبيونات الكالسيوم 0.3%
4.39 \pm 0.05 ^{bB}	5.20 \pm 0.25 ^{aA}	5.07 \pm 0.04 ^{aA}	كيتوزان 0.5%
ND	ND	ND	كيتوزان 1%
ND	ND	ND	كيتوزان 1.5%

البيانات معبر عنها بالمتوسط \pm SE الخطأ القياسي، عدد المكررات = 3

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الصغيرة داخل نفس العمود لا يوجد بينها اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).

البيانات المتبوعة بنفس الحروف الكبيرة داخل نفس الصف لا يوجد بينهم اختلافات معنوية ($p \leq 0.05$).

ND لم تظهر أي نموات حتى التخفيف السادس



الشكل (23): العدد الكلي للبكتيريا (log cfu/g) لعينات الخبز تحت الدراسة.

8-4 الفحص البصري لعينات خبز القوالب المضاف لها نسب مختلفة من الكيتوزان الفطري:

الفساد الفطري هو سبب أساسي للخسائر الاقتصادية الكبيرة في منتجات المخازن وخاصة الخبز بأنواعه المختلفة، ويمكن اعتباره أيضًا مصدرًا للسموم الفطرية التي قد تؤدي إلى مشاكل في الصحة العامة (Legan, 1993). تتضح نتائج الفحص البصري لحالة النمو الفطري وظهور العفن على شرائح الخبز أثناء التخزين في درجة حرارة الغرفة ($22 \pm 3^\circ\text{C}$) لمدة سبعة أيام في الجدول رقم (15)، والشكل رقم (24).

كما يظهر في الجدول رقم (15) تم تأكيد ظهور العفن بصريًا بدايةً من اليوم السادس من التخزين بكل من العينة الضابطة ومعاملة حمض الأسكوربيك، وبذلك ليس لحمض الأسكوربيك المستعمل في تذويب الكيتوزان الفطري تأثير مضاد لنمو العفن عند $\text{pH}=6.1$. بينما كان للكيتوزان تأثير مضاد لنمو العفن على الخبز بجميع النسب تحت الدراسة (-1.5%) (0.5-1، حيث لم يلاحظ أي ظهور للعفن طوال مدة الملاحظة وحتى بعد اليوم السابع من التخزين في معاملات الكيتوزان الفطري ومعاملة بروبيونات الكالسيوم.

كشفت دراسة (Rakkhumkaew and Pongsuk, 2018) عن الخصائص المثبطة لنمو العفن الطبيعي للكيتوزان وأوليغوسكريدات الكيتوزان (COS) بنسبة 1% في الخبز، بأوزان جزيئية: 650KDa و 13KDa على التوالي، وذلك بتحضير شرائح الخبز لملاحظة نمو العفن في أكياس بلاستيكية عند 30°C لمدة أربعة أيام. أظهرت عينة الكيتوزان و COS تأثيرًا مثبطًا للعفن حيث لم يظهر أي نمو حتى بعد اليوم الرابع من التحضير، في حين أن العينة الضابطة أظهرت نمو أكبر للعفن على القشرة و سطح الشريحة.

كذلك في دراسة (Kim, 2004) تم وضع العينات في طبق بتري محكم الإغلاق، ثم ملاحظة حالة نمو العفن بالعين المجردة لمدة سبعة أيام عند (30°C ، الرطوبة 80%). والتي نتج عنها ظهور العفن في اليوم الثالث والرابع للمعاملة 0% و 0.1% على التوالي، وفي اليوم الخامس للمعاملتين 1% و 3%، بينما تم تأكيد ظهور العفن بمعاملة COS 1% في اليوم السادس. وأوصت الدراسة بالمعاملتين 3% للكيتوزان، و COS بنسبة 1%. يلاحظ في هذه الدراسة ارتفاع التركيز الموصى به من الكيتوزان مع عدم تقييم المعاملة حسيًا، ففي حين أن 3% هو

الأكثر فعالية في تثبيط نمو الأحياء الدقيقة، إلا أنه قد يؤثر في نفس الوقت سلبيًا على خواص وجودة الخبز الناتج، وأيضًا يلحظ في هذه الدراسة عدم تحديد MW للكيوتوزان المستخدم، حيث أنها معلومة مهمة للفصل بين تأثيرات الكيوتوزان بشكل أوضح. إلا أن هذه الدراسة تتفق مع النتائج المتحصل عليها في الدراسة الحالية كون التأثير المثبط لنمو العفن يزداد بزيادة التركيز المضاف من الكيوتوزان.

جدول (15): نتائج الكشف البصري عن ظهور العفن في عينات خبز القوالب المضاف لها نسب مختلفة من الكيوتوزان.

الزمن (يوم)							المعاملات
7	6	5	4	3	2	1	
+	+	-	-	-	-	-	العينة الضابطة
+	+	-	-	-	-	-	حمض الأسكوربيك
-	-	-	-	-	-	-	بروبيونات الكالسيوم
-	-	-	-	-	-	-	كيوتوزان 0.5%
-	-	-	-	-	-	-	كيوتوزان 1%
-	-	-	-	-	-	-	كيوتوزان 1.5%

الرموز الدالة على معدل ظهور النمو الفطري على شريحة الخبز. (-) لم يظهر أي نمو للعفن، (+) بدأ النمو بالظهور.



(2)



(1)



(4)



(3)



(6)



(5)

الشكل (24): صور لشرائح الخبز بعد التخزين على درجة حرارة الغرفة لمدة سبعة أيام. (1) العينة الضابطة، (2) عينة بروبيونات الكالسيوم، (3) عينة حمض الأسكوربيك، (4) عينة الكيتوزان 0.5%، (5) عينة الكيتوزان 1%، (6) عينة الكيتوزان 1.5%.

الباب الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

أولاً: الاستنتاجات:

أهم الاستنتاجات التي توصلت إليها الدراسة:

1. حدوث انخفاض في الحجم والحجم النوعي لجميع عينات الخبز المعاملة بالكيوتوزان الفطري مقارنة بالعينة الضابطة، بينما لم يتأثر وزن الخبز معنوياً بإضافة الكيوتوزان الفطري.
2. أوضحت نتائج التقييم الحسي لعينات الخبز أن العينة الضابطة كانت الأفضل بمجموع نقاط (49.81)، ثم تبعثها عينة الخبز المضاف إليها الكيوتوزان الفطري بالنسبة 1% بمجموع نقاط (49.14). بينما أدت زيادة نسبة الكيوتوزان إلى 1.5% إلى انخفاض معنوي في التقييم الحسي للون القشرة في الخبز.
3. بينت نتائج اللون في لبابة عينات الخبز المضاف لها نسب مختلفة من الكيوتوزان الفطري أن قيم اللمعان (L) أظهرت إنخفاضاً معنوياً مع ازدياد نسبة الكيوتوزان المضافة، وبالنسبة لقيم (a) درجة الاحمرار فلم يكن لإضافة الكيوتوزان بالنسبة 0.5% تأثير معنوي وازداد احمرار اللبابة قليلاً بزيادة نسبة الكيوتوزان، ولم يكن لإضافة الكيوتوزان بالنسب 1-0.5% تأثير معنوي على درجة الاصفرار (b) في اللبابة. بينما أظهرت نتائج اللون في القشرة انخفاض قيم (L) بزيادة نسبة الكيوتوزان المضافة ولم يكن لإضافة الكيوتوزان بالنسبة 0.5% تأثير معنوي، وبالنسبة للقيم (a) و (b) فلم تظهر إضافة الكيوتوزان بالنسب 0.5-1% تأثير معنوي عليهما مقارنة بالضابطة.
4. أظهرت النتائج أن معدل الفقد في الرطوبة ينخفض مع ازدياد نسبة الكيوتوزان الفطري المضافة، فقد ازداد الفرق ليكون معنوياً في اليوم الخامس من التخزين بين عينات الخبز المحتوية على الكيوتوزان بالنسب (1 و 1.5%) بقيمة (35.88 و 35.53%) وبين العينة الضابطة والخبز المحتوي على كيتوزان بنسبة 0.5% (34.57 و 34.72%) على التوالي، وبالتالي قد يؤدي ذلك إلى تأخير حدوث التجلد.
5. قيم النشاط المائي كانت الأعلى في خبز العينة الضابطة مقارنة بالخبز المحتوي على نسب من الكيوتوزان الفطري في بداية التخزين، وبزيادة فترة التخزين ينخفض نشاط المائي في خبز العينة الضابطة بشكل ملحوظ، بينما كان انخفاض النشاط المائي للخبز مع إضافة الكيوتوزان أقل.

6. ازدادت الصلابة في اليوم الأول مع زيادة نسب الكيتوزان الفطري المضافة مقارنة بالعينة الضابطة، كما لوحظ عدم تأثير التقييم الحسي للقوام بزيادة تركيز الكيتوزان بعينات الخبز. ازدادت صلابة العينة الضابطة للخبز بشكل أكبر مع امتداد فترة التخزين، بينما كانت درجة التغيير في الصلابة أقل في عينات الخبز المحتوية على الكيتوزان الفطري، ولم تسجل أي فروق معنوية بين العينة الضابطة ومعاملات الكيتوزان (0.5 و 1%) في اليوم الخامس من التخزين.

7. بينت نتائج التحليل الميكروبيولوجي لعينات الخبز أن تأثير الحفظ كان الأفضل في عينات الخبز المحتوية على نسب الكيتوزان 1 و 1.5%، فلم يظهر أي نمو للمستعرات خلال مدة التخزين (5 أيام).

8. كان لإضافة الكيتوزان الفطري بجميع النسب 0.5، 1 و 1.5% وكذلك بروبيونات الكالسيوم تأثير مثبط لنمو العفن الطبيعي على حد سواء، ولم يتم رصد ظهور أي نمو للعفن طوال فترة الملاحظة (7 أيام).

ثانياً- التوصيات:

الخبز والمخبوزات جزء أساسي من الغذاء اليومي، يوماً بعد يوم يزداد وعي المستهلكين بشأن جودة الغذاء فالتوجه للأغذية الطبيعية مع الحد الأدنى من المضافات الكيميائية متزايد، هذا ما يدفع العاملين في صناعة الأغذية إلى البحث عن حلول وإيجاد البدائل. تعتبر العديد من المركبات الطبيعية مضادات ميكروبية، ولكن للعاملين في صناعة المخبوزات استخدام مجموعة محدودة منها فقط، ويمكن اعتبار الكيتوزان الفطري كمثال، حيث يمكن بإضافته تمديد فترة صلاحية الخبز والمخبوزات مع تحقيق متطلبات السوق والمستهلكين في خفض المواد المضافة الصناعية. وفي ختام هذا البحث توصي الدراسة بما يلي:

1. تقليل استهلاك المواد الحافظة الكيميائية والمواد المضافة الصناعية عمومًا، واستبدالها ببدائل حافظة طبيعية كالـكيتوزان الفطري في صناعة المخابز والخبز تحديداً، لما يمتاز به من فاعلية قوية في تمديد فترة الصلاحية الخبز مع تقديم خبز وظيفي في نفس الوقت.
2. التوصية بإمكانية إعداد خبز يحتوي على نسبة 1% من الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية دون حدوث اختلافات كبيرة في الجودة الفيزيوكيميائية والقبول الحسي للخبز، وإن إضافة الكيتوزان الفطري كمادة حافظة طبيعية للخبز بنسبة 1% يمكن أن يكون تطبيقاً ناجحاً في صناعة الأغذية.
3. الدعوة إلى مزيد من الدراسات حول إضافة الكيتوزان الفطري للخبز لمعرفة تأثيراته الصحية وتأثيراته الوظيفية المختلفة، والتوسع في دراسة فوائد الخبز المحتوي على الكيتوزان الفطري كمنتج وظيفي.
4. تقييم تأثير استخدام الكيتوزان الفطري كطلاءات وأغلفة صالحة للأكل بدلاً من إضافته لخلطة الخبز على جودة الخبز الكلية.
5. الدعوة للإنتاج المحلي للكيتوزان الفطري والاستفادة من المخلفات الفطرية لتحقيق متطلبات السوق السعودي منه وإنتاج منتج مزدهر في العديد من القطاعات، ودعم الباحثين والباحثات السعوديين الناشئين في سهولة الوصول إليه.

الباب السادس

المراجع

REFERENCES

قائمة المراجع

أولاً: المراجع العربية:

المؤسسة العامة للحبوب. (2019). خط الأساس: مؤشر الفقد والهدر في الغذاء بالمملكة العربية السعودية. المؤسسة العامة للحبوب. المملكة العربية السعودية.

https://www.sago.gov.sa/Content/Files/Baseline_180419.pdf

سليمان، ضحى داود والعبادي، إيناس مظفر وموسى، مكارم علي. (2011). تأثير إضافة الكايتوسان على الصفات الريولوجية والحسية والخرنية لخبز اللوف. مجلة ديالي للعلوم الزراعية، 3(2)، 722-732.

- AACC. (1999). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists International. Method 74-09.01. Published by American Association of Cereal Chemists. St. Paul, MN, USA.
- AACC. (2000). Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. Published by American Association of Cereal Chemists. 10th ed. St. Paul, MN, U.S.A.
- Abo Elsoud, M. M., & El Kady, E. M. (2019). Current trends in fungal biosynthesis of chitin and chitosan. *Bulletin of the National Research Centre*, 43(59), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0105-y>
- Akakuru, O. U., Louis, H., Amos, P. I., Akakuru, O. C., Nosike, E. I., & Ogulewe, E. F. (2018). The chemistry of chitin and chitosan justifying their nanomedical utilities. *Biochem Pharmacol (Los Angel)*, 7(241), 501–2167.
- Alam, J., Murshed, H., Rahman, S., & Oh, D. (2018). Effect of chitosan on quality and shelf life of beef at refrigerated storage. *Bangladesh Journal of Animal Science*, 46(4), 230–238. <https://doi.org/10.3329/bjas.v46i4.36963>
- Ali, S., Ul-Haq, I., Qadeer, M. A., & Iqbal, J. (2002). Production of citric acid by *Aspergillus niger* using cane molasses in a stirred fermentor. *Electronic Journal of Biotechnology*, 5(3), 258–271. <https://doi.org/10.2225/vol5-issue3-fulltext-3>
- Alsaggaf, M. S., Moussa, S. H., & Tayel, A. A. (2017). Application of fungal chitosan incorporated with pomegranate peel extract as edible coating for microbiological, chemical and sensorial quality enhancement of Nile tilapia fillets. *International Journal of Biological Macromolecules*, 99, 499–505.
- Ausar, S. F., Morcillo, M., León, A. E., Ribotta, P. D., Masih, R., Vilaro Mainero, M., Amigone, J. L., Rubin, G., Lescano, C., Castagna, L. F., Beltramo, D. M., Diaz, G., & Bianco, I. D. (2003). Improvement of HDL- and LDL-cholesterol levels in diabetic subjects by feeding bread containing chitosan. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 397–399. <https://doi.org/10.1089/109662003772519985>
- Axel, C., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2017). Mold spoilage of bread and

- its biopreservation: A review of current strategies for bread shelf life extension. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(16), 3528–3542. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1147417>
- Ayo, J., & Nkama, I. (2004). Effect of acha (*digitaria exilis*) grain flour on the physico-chemical and sensory properties of bread. *International Journal of Food Properties*, 7(3), 561–569. <https://doi.org/10.1081/JFP-200032971>
- Benhabiles, M. S., Salah, R., Lounici, H., Drouiche, N., Goosen, M. F. A., & Mameri, N. (2012). Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. *Food Hydrocolloids*, 29(1), 48–56. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.02.013>
- Batista, A. C., de Souza Paiva, W., & de Souza Neto, F. E. (2022). Chitosan. In J. M. Oliveira, H. Radhouani, & R. L. Reis (Eds.), *Polysaccharides of Microbial Origin: Biomedical Applications* (pp. 229–246). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-42215-8_14
- Bhale, S., No, H. K., Prinyawiwatkul, W., Farr, A. J., Nadarajah, K., & Meyers, S. P. (2003). Chitosan coating improves shelf life of eggs. *Journal of Food Science*, 68(7), 2378–2383. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05776.x>
- Cauvain, S. (2015). Bread Spoilage and Staling. In *Technology of Breadmaking*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14687-4_10
- Cauvain, S. P., & Young, L. S. (2007). *Technology of breadmaking* (pp 275-298). Springer.
- Chien, P. J., & Chou, C. C. (2006). Antifungal activity of chitosan and its application to control post-harvest quality and fungal rotting of Tankan citrus fruit (*Citrus tankan* Hayata). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 1964–1964. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Chien, R. C., Yen, M. T., & Mau, J. L. (2016). Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes, compared to commercial chitosan from crab shells. *Carbohydrate Polymers*, 138, 259–264. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.11.061>
- Chung, Y.-C., Su, Y. P., Chen, C.-C., Jia, G., Wang, H. L., Wu, J. C. G., & Lin, J. G. (2004). Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall. *Acta Pharmacologica Sinica*,

25(7), 932–936.

Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., & Deschamps, A. (2002). Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. *Journal of Food Science*, 67(3), 1162–1169.

Dengate, S., & Ruben, A. (2002). Controlled trial of cumulative behavioural effects of a common bread preservative. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 38(4), 373–376. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1754.2002.00009.x>

Denkova, R., Ilieva, S., Denkova, Z., Georgieva, L., Yordanova, M., Nikolova, D., & Evstatieva, Y. (2014). Production of wheat bread without preservatives using sourdough starters. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 28(5), 889–898.

Devlieghere, F., Vermeulen, A., & Debevere, J. (2004). Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*, 21(6), 703–714.

Durango, A. M., Soares, N. F. F., & Andrade, N. J. (2006). Microbiological evaluation of an edible antimicrobial coating on minimally processed carrots. *Food Control*, 17(5), 336–341. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.10.024>

Dutta, P. K., Dutta, J., & Tripathi, V. S. (2004). Chitin and Chitosan: Chemistry, properties and applications. *Journal of Scientific and Industrial Research*, 63(1), 20–31.

Dutta, P. K., Tripathi, S., Mehrotra, G. K., & Dutta, J. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 114(4), 1173–1182.

El-Refai, A., Hassan, A., Nagy, K., & Rabie, M. (2017). Antimicrobial Effect for Both of Carboxy Methyl Cellulose and Chitosan Treated with Ferulic Acid or Nanosilver Particles as Edible Coatings used for Some Refrigerated Beef Samples. *Journal of Food and Dairy Sciences*, 8(2), 87–91. <https://doi.org/10.21608/jfds.2017.37128>

Eldin, M. S. M., Soliman, E. A., Hashem, A. I., & Tamer, T. M. (2008). Antibacterial activity of chitosan chemically modified with new technique. *Trends Biomater Artif Organs*, 22(3), 125–137.

- Elía, M. (2011). A procedure for sensory evaluation of bread: Protocol developed by a trained panel. *Journal of Sensory Studies*, 26(4), 269–277. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2011.00342.x>
- FAO. (2015). Global initiative on food loss and food waste reduction. *United Nations*. <https://www.fao.org/3/i4068e/i4068e.pdf>
- FAO. (2017). The future of food and agriculture: trends and challenges. In *Rome*. <https://www.fao.org/3/I6881e/I6881e.pdf>
- FAO. (2019). *The state of food and agriculture: Moving forward on food loss and waste reduction*. <http://www.fao.org/3/ca6030en/ca6030en.pdf>
- FAO. (2022). *Voluntary Code of Conduct for Food Loss and Waste Reduction*. <https://doi.org/10.4060/cb9433en>
- FDA. (2011). Generally Recognized as Safe (GRAS) substance under the US FDA regulation. *US Food and Drug Administration, GRAS NOTICE No. 397*, FDA response letter.
- Fei Liu, X., Lin Guan, Y., Zhi Yang, D., Li, Z., & De Yao, K. (2001). Antibacterial action of chitosan and carboxymethylated chitosan. *Journal of Applied Polymer Science*, 79(7), 1324–1335.
- Frank, J. F., & Yousef, A. E. (2004). “Tests for groups of microorganisms,” *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 17th Edn, ed. M. Wehr (Washington, DC: American Public Health Association), 8:227–248.
- García-Rincón, J., Vega-Pérez, J., Guerra-Sanchez, M. G., Hernandez-Lauzardo, A. N., Peña-Díaz, A., & Velazquez-Del Valle, M. G. (2010). Effect of chitosan on growth and plasma membrane properties of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.: Fr.) Vuill. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 97(3), 275–278.
- Garcia, M. V., Bernardi, A. O., & Copetti, M. V. (2019). The fungal problem in bread production: insights of causes, consequences, and control methods. *Current Opinion in Food Science*, 29, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.06.010>
- Ghoshal, G., & Mehta, S. (2019). Effect of chitosan on physicochemical and rheological attributes of bread. *Food Science and Technology International*, 25(3), 198–211. <https://doi.org/10.1177/1082013218814285>

- Giroto, F., Alibardi, L., & Cossu, R. (2015). Food waste generation and industrial uses: A review. *Waste Management*, 45, 32–41. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.06.008>
- Gonçalves, C., Ferreira, N., & Lourenço, L. (2021). Production of low molecular weight chitosan and chitooligosaccharides (COS): A review. *Polymers*, 13(15), 2466.
- Goy, R. C., Britto, D. de, & Assis, O. B. G. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19, 241–247.
- Gray, J. A., & Bemiller, J. N. (2003). Bread staling: Molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(1), 1–21. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00011.x>
- Guibal, E. (2004). Interactions of metal ions with chitosan-based sorbents: a review. *Separation and Purification Technology*, 38(1), 43–74.
- Gutiérrez, T. J. (2017). Chitosan Applications for the Food Industry. *Chitosan*, 183–232. <https://doi.org/10.1002/9781119364849.ch8>
- Hajji, S., Younes, I., Ghorbel-Bellaaj, O., Hajji, R., Rinaudo, M., Nasri, M., & Jellouli, K. (2014). Structural differences between chitin and chitosan extracted from three different marine sources. *International Journal of Biological Macromolecules*, 65, 298–306.
- Harrigan, W. F., & McCance, M. E. (1976). *Laboratory methods in food and dairy microbiology*. Academic Press Inc.(London) Ltd.
- He, X., Li, K., Xing, R., Liu, S., Hu, L., & Li, P. (2016). The production of fully deacetylated chitosan by compression method. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, 42(1), 75–81.
- Hu, Z., & Gänzle, M. G. (2018). Challenges and opportunities related to the use of chitosan as a food preservative. *Journal of Applied Microbiology*, 126(5), 1318–1331. <https://doi.org/10.1111/jam.14131>
- Huq, T., Khan, A., Brown, D., Dhayagude, N., He, Z., & Ni, Y. (2022). Sources, production and commercial applications of fungal chitosan: A review. *Journal of Bioresources and Bioproducts*.
- Hussain, R., Maji, T. K., & Maji, T. K. (2013). Determination of Degree of Deacetylation of Chitosan and Their effect on the Release Behavior of Essential Oil from Chitosan and Chitosan-Gelatin Complex

- Microcapsules. *International Journal of Advanced Engineering Applications*, 2(4), 4–12.
- Jago, W., & Jago, W. C. (1991). *THE TECHNOLOGY OF BREAD-MAKING*. London: Simpkin, Marshall, Hamilton, Kent, & Co.
- Jayashree, T., Vaishali, N., & Moses, K. (2018). Preservatives used for control of fungal spoilage of bread. *International Journal of Life Sciences, Special is(A9)*, 6–10.
- Jing, L., Lei, Z., Li, L., Xie, R., Xi, W., Guan, Y., Sumner, L. W., & Zhou, Z. (2014). Antifungal activity of citrus essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(14), 3011–3033. <https://doi.org/10.1021/jf5006148>
- Kerch, G., Rustichelli, F., Ausili, P., Zicans, J., Meri, R. M., & Glonin, A. (2008). Effect of chitosan on physical and chemical processes during bread baking and staling. *European Food Research and Technology*, 226(6), 1459–1464. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0677-x>
- Kerch, G., Zicans, J., & Meri, R. M. (2010). The effect of chitosan oligosaccharides on bread staling. *Journal of Cereal Science*, 52(3), 491–495. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2010.08.007>
- Khattak, S., Wahid, F., Liu, L. P., Jia, S. R., Chu, L. Q., Xie, Y. Y., Li, Z. X., & Zhong, C. (2019). Applications of cellulose and chitin/chitosan derivatives and composites as antibacterial materials: Current state and perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(5), 1989–2006. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-09602-0>
- Kim, J. (2004). Effect of Chitosan Addition on the Shelf-Life of Bread. *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 17(4), 388–392.
- Knorr, D. (1991). Recovery and utilization of chitin and chitosan in food processing waste management. *Food Technology (USA)*. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US9128440#.X3jJxx4_5Kc.mendeley
- Kong, M., Chen, X. G., Liu, C. S., Liu, C. G., & Meng, X. H. (2008a). Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 65(2), 197–202.
- Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial

- properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 51–63. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.012>
- Kong, M., Chen, X., Xue, Y., Liu, C., Yu, L., Ji, Q., Cha, D. S., & Park, H. J. (2008b). Preparation and antibacterial activity of chitosan microspheres in a solid dispersing system. *Frontiers of Materials Science in China*, 2(2), 214–220.
- Kotoki, D., & Deka, S. C. (2010). Baking loss of bread with special emphasis on increasing water holding capacity. *Journal of food science and technology*, 47(1), 128-131.
- Kumar, A. B. V., Varadaraj, M. C., Gowda, L. R., & Tharanathan, R. N. (2007). Low molecular weight chitosans—Preparation with the aid of pronase, characterization and their bactericidal activity towards *Bacillus cereus* and *Escherichia coli*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1770(4), 495–505.
- Kumar, M. N. V. R., Muzzarelli, R. A. A., Muzzarelli, C., Sashiwa, H., & Domb, A. J. (2005). Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chemical Reviews*, 104(12), 6017–6084. <https://doi.org/10.1021/cr030441b>
- Kumirska, J., Weinhold, M. X., Thöming, J., & Stepnowski, P. (2011). Biomedical activity of chitin/chitosan based materials—influence of physicochemical properties apart from molecular weight and degree of N-acetylation. *Polymers*, 3(4), 1875–1901.
- Lafarga, T., Gallagher, E., Walsh, D., Valverde, J., & Hayes, M. (2013). Chitosan-Containing Bread Made Using Marine Shellfishery Byproducts: Functional, Bioactive, and Quality Assessment of the End Product. *J Agric Food Chem*, 61, 8790–8796.
- Lee, H. Y., Kim, S. M., Kim, Y. J., Youn, S. K., Choi, J. S., Park, S. M., & Ahn, D. H. (2002a). Changes of Quality Characteristics on the Bread added Chitosan. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 34(January), 449–453.
- Lee, H. Y., Kim, S. M., Kim, Y. J., Youn, S. K., Choi, J. S., Park, S. M., & Ahn, D. H. (2002b). Effect of Addition of Chitosan on Improvement for Shelf Life of Bread. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 31(3), 445–450. <https://doi.org/10.3746/jkfn.2002.31.3.445>

- Legan, J. D. (1993). Mould spoilage of bread: the problem and some solutions. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 32(1–3), 33–53. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(93\)90038-4](https://doi.org/10.1016/0964-8305(93)90038-4)
- Legan, J. D., & Voysey, P. A. (1991). Yeast spoilage of bakery products and ingredients. *Journal of Applied Bacteriology*, 70(5), 361–371. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1991.tb02950.x>
- Liu, X., Song, L., Li, L., Li, S., & Yao, K. (2007). Antibacterial effects of chitosan and its water-soluble derivatives on *E. coli*, plasmids DNA, and mRNA. *Journal of Applied Polymer Science*, 103(6), 3521–3528.
- Márquez, I. G., Akuaku, J., Cruz, I., Cheetham, J., Golshani, A., & Smith, M. L. (2013). Disruption of protein synthesis as antifungal mode of action by chitosan. *International Journal of Food Microbiology*, 164(1), 108–112.
- Melikoglu, M., & Webb, C. (2013). Use of waste bread to produce fermentation products. In *Food Industry Wastes* (First Edit). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391921-2.00004-4>
- Melini, V., & Melini, F. (2018). Strategies to extend bread and GF bread shelf-life: From Sourdough to antimicrobial active packaging and nanotechnology. *Fermentation*, 4(9), 1–18. <https://doi.org/10.3390/fermentation4010009>
- Melo, Natália Ferrão Castelo Branco, de Lima, M. A. B., Stamford, T. L. M., Galembeck, A., Flores, M. A. P., de Campos Takaki, G. M., da Costa Medeiros, J. A., Stamford-Arnaud, T. M., & Montenegro Stamford, T. C. (2020a). In vivo and in vitro antifungal effect of fungal chitosan nanocomposite edible coating against strawberry phytopathogenic fungi. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(11), 3381–3391.
- Melo, Natália Ferrao Castelo Branco, Pintado, M. M. E., da Costa Medeiros, J. A., Galembeck, A., da Silva Vasconcelos, M. A., Xavier, V. L., de Lima, M. A. B., Stamford, T. L. M., Stamford–Arnaud, T. M., & Flores, M. A. P. (2020b). Quality of postharvest strawberries: comparative effect of fungal chitosan gel, nanoparticles and gel enriched with edible nanoparticles coatings. *International Journal of Food Studies*, 9(2).
- MFDS. (2016a). Health Functional Food Code. *Ministry of Food and Drug Safety, Korea*.

- MFDS. (2016b). Ministry of Food and Drug Safety White Paper. *Ministry of Food and Drug Safety, Korea*.
- MFDS. (2020). Food additives code. *Ministry of Food and Drug Safety, Korea*, 59(7).
- MHLW. (2020). Additive code. *Ministry of Health, Labour and Welfare, Japan*. <https://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tetsuzuki-fains/dl/2-08.pdf>
- Moore, D., Robson, G.D., & Trinci, A.P.J. (2011). 21st Century Guidebook to Fungi, 1st ed. Cambridge University Press, Cambridge.
- Muñoz-Bonilla, A., Cerrada, M. L., & Fernández-García, M. (2014). CHAPTER 2 Antimicrobial Activity of Chitosan in Food, Agriculture and Biomedicine. In *Polymeric Materials with Antimicrobial Activity: From Synthesis to Applications* (pp. 22–53). The Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/9781782624998-00022>
- Muzzarelli, R. A. A., Boudrant, J., Meyer, D., Manno, N., Demarchis, M., & Paoletti, M. G. (2012). Current views on fungal chitin/chitosan, human chitinases, food preservation, glucans, pectins and inulin: A tribute to Henri Braconnot, precursor of the carbohydrate polymers science, on the chitin bicentennial. *Carbohydrate Polymers*, 87(2), 995–1012. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.09.063>
- Negi, P. S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology*, 156(1), 7–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.03.006>
- Oh, H. Il, Kim, Y. J., Chang, E. J., & Kim, J. Y. (2001). Antimicrobial characteristics of chitosans against food spoilage microorganisms in liquid media and mayonnaise. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 65(11), 2378–2383.
- Oliveira, P. M., Zannini, E., & Arendt, E. K. (2014). Cereal fungal infection, mycotoxins, and lactic acid bacteria mediated bioprotection: From crop farming to cereal products. *Food Microbiology*, 37, 78–95. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.06.003>
- Ooraikul, B. (1991). Modified atmosphere packagign of bakery product. In B. Ooraikul & M. E. Stiles (Eds.), *Modified Atmosphere Packaging of Food*. Ellis Howood,.

- Park, Y., Kim, M. H., Park, S. C., Cheong, H., Jang, M. K., Nah, J. W., & Hahm, K. S. (2008). Investigation of the antifungal activity and mechanism of action of LMWS-chitosan. In *Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 18, Issue 10, pp. 1729–1734).
- Pateras, I. M. C. (1999). Bread spoilage and staling. In *Technology of Breadmaking*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-6687-5_10
- Pochanavanich, P., & Suntornsuk, W. (2002). Fungal chitosan production and its characterization. *Letters in Applied Microbiology*, 35(1), 17–21. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01118.x>
- Raafat, D., & Sahl, H. G. (2009). Chitosan and its antimicrobial potential - A critical literature survey. *Microbial Biotechnology*, 2(2 SPEC. ISS.), 186–201. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2008.00080.x>
- Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457–1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>
- Rakcejeva, T., Rusa, K., Dukalska, L., & Kerch, G. (2011). Effect of chitosan and chitooligosaccharide lactate on free lipids and reducing sugars content and on wheat bread firming. *European Food Research and Technology*, 232(1), 123–128. <https://doi.org/10.1007/s00217-010-1368-6>
- Rakkhumkaew, N., & Pongsuk, C. (2018). Chitosan and chitooligosaccharides from shrimp shell waste: characterization, antimicrobial and shelf life extension in bread. *Food Science and Biotechnology*, 27(4), 1201–1208. <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0332-2>
- Rane, k. d., & Hoover, D. G. (1993). Production of chitosan by fungi. *Food Biotechnology*, 7(1), 11–33. <https://doi.org/10.1080/08905439309549843>
- Rhoades, J., & Roller, S. (2000). Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(1), 80–86.
- Rinaudo, M. (2006). Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science (Oxford)*, 31(7), 603–632. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2006.06.001>

- Rogers, D. E., Zeleznak, K. J., Lai, C. S., & Hoseney, R. C. (1988). Effect of native lipids, shortening, and bread moisture on bread firming. *Cereal Chemistry*, 65(5), 398–401.
- Roller, S., & Covill, N. (1999). The antifungal properties of chitosan in laboratory media and apple juice. *International Journal of Food Microbiology*, 47(1–2), 67–77.
- Romanazzi, G., Gabler, F. M., Margosan, D., Mackey, B. E., & Smilanick, J. L. (2009). Effect of chitosan dissolved in different acids on its ability to control postharvest gray mold of table grape. *Phytopathology*, 99(9), 1028–1036. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-99-9-1028>
- Saranraj, P., & Geetha, M. (2012). Microbial Spoilage of Bakery Products and Its Control by Preservatives. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 3(1), 204–214. www.ijpba.info
- Sebastian, J., Rouissi, T., & Brar, S. K. (2020). Fungal chitosan: prospects and challenges. *Handbook of Chitin and Chitosan*, 419–452.
- Seiler, D. (1983). Preservation of bakery products. *Proceedings of the Institute of Food Science and Technology*, 17, 31–39.
- Seiler, D. (1992). Basic guide to product spoilage and hygiene. Part 1: Mould growth on bread. *Chorleywood Digest No, 121*, 117–119.
- Sekiguchi, S., Miura, Y., Kaneko, H., Nishimura, S. I., Nishi, N., Iwase, M., & Tokura, S. (1994). Molecular weight dependency of antimicrobial activity by chitosan oligomers. In *Food hydrocolloids* (pp. 71–76). Springer.
- Sharma, S. (2015). Food preservatives and their harmful effects. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 5(4), 1–2.
- Silva, M. M., & Lidon, F. C. (2016). An overview on applications and side effects of antioxidant food additives. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 823–832.
- Singhal, R. S., & Kulkarni, P. R. (1999). *PRESERVATIVES Permitted Preservatives–Propionic Acid*.
- Sperber, W. H., & Doyle, M. P. (2009). Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. In *Compendium of the*

Microbiological Spoilage of Foods and Beverages. Springer.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4419-0826-1>

Sudarshan, N. R., Hoover, D. G., & Knorr, D. (1992). Antibacterial action of chitosan. *Food Biotechnology*, 6(3), 257–272.

Suhr, K. I., & Nielsen, P. V. (2004). Effect of weak acid preservatives on growth of bakery product spoilage fungi at different water activities and pH values. *International Journal of Food Microbiology*, 95(1), 67–78.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.02.004>

Tavaria, F. K., Fernandes, J. C., Santos-Silva, A., Silva, S., Sarmiento, B., & Pintado, M. E. (2010). *Biological activities of chitin, chitosan and respective oligomers*.

Teng, W. L., Khor, E., Tan, T. K., Lim, L. Y., & Tan, S. C. (2001). Concurrent production of chitin from shrimp shells and fungi. *Carbohydrate Research*, 332(3), 305–316.
[https://doi.org/10.1016/S0008-6215\(01\)00084-2](https://doi.org/10.1016/S0008-6215(01)00084-2)

Tokura, S., Miura, Y., Johmen, M., Nishi, N., & Nishimura, S.-I. (1994). Induction of drug specific antibody and the controlled release of drug by 6-O-carboxymethyl-chitin. In *Advances in Drug Delivery Systems*, 6 (pp. 235–241). Elsevier.

Ulziijargal, E., Yang, J. H., Lin, L. Y., Chen, C. P., & Mau, J. L. (2013). Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. *Food Chemistry*, 138(1), 70–76.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.051>

UNEP. (2021). United Nations Environment Programme. *Food Waste Index Report 2021*. Nairobi.
<https://wedocs.unep.org/bitstream/handle/20.500.11822/35280/FoodWaste.pdf>

Wang, X., Du, Y., Fan, L., Liu, H., & Hu, Y. (2005). Chitosan-metal complexes as antimicrobial agent: Synthesis, characterization and Structure-activity study. *Polymer Bulletin*, 55(1), 105–113.

Wang, X., Du, Y., & Liu, H. (2004). Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan–Zn complex. *Carbohydrate Polymers*, 56(1), 21–26.

Wang, Y., Zhang, W., & Fu, L. (2017). *Food Spoilage Microorganisms:*

ecology and control. CRC Press.

- Watterson, M. J., Kent, D. J., Boor, K. J., Wiedmann, M. & Martin, N. H. (2014). Evaluation of dairy powder products implicates thermophilic spore formers as the primary organisms of interest. *Journal of Dairy Science*, 97:2487–2497.
- WRAP. (2011). Waste and Resources Action Programme. *Link Consumer Strategies and Campden BRI “Reducing household bakery waste,.”* WRAP. <https://wrap.org.uk/resources/report/reducing-household-bakery-waste>
- Zheng, L.-Y., & Zhu, J.-F. (2003). Study on antimicrobial activity of chitosan with different molecular weights. *Carbohydrate Polymers*, 54(4), 527–530.
- Zhong, Z., Xing, R., Liu, S., Wang, L., Cai, S., & Li, P. (2008). Synthesis of acyl thiourea derivatives of chitosan and their antimicrobial activities in vitro. *Carbohydrate Research*, 343(3), 566–570.

English summary

Effect of Fungal Chitosan as a Natural Preservative on the Quality and Shelflife of Bread

by
Lugain Fahad Saleh AL.Saikhan

Bread is the second most wasted food product in KSA, with economic losses of approximately 760 million SAR annually. Mold growth is considered as one of the main reasons for bread waste due to the production of mycotoxins which cause health problems for humans and animals. The discovery of fungal chitosan paved the way for numerous studies and applications. However, apart from its usage as a natural preservative in the food industry, its impact on bread's shelf life had not been studied before where this study aimed to cover. Therefore, this study aimed to investigate the effect of adding different concentrations of fungal chitosan (0.5, 1.0, and 1.5%) as a natural preservative to bread (pan bread) and comparing it to some common chemical bread preservatives such as calcium propionate and ascorbic acid. Also, the impact of fungal chitosan on sensory properties, crust and crumb color, moisture content, water activity, texture, and microbiological quality for pan bread during storage at room temperature (22 ± 3 °C) for up to 5 days.

The results revealed that although the addition of fungal chitosan had no significant impact on the bread's weight, it significantly reduced the volume and specific volume of the bread.

The sensory evaluation results show that adding (0.5, 1.0, and 1.5%) chitosan has no significant impact on the sensory qualities and general acceptance of pan bread, except for the crust color, which darken with the increase of chitosan concentration. The results also demonstrate that the control sample was the best treatment with a total sensory evaluation score of (49.81), followed by the 1% chitosan sample (49.14).

The results of the crumb color show that the values of Lightness (L) were the highest in the control sample (76.32), followed by (0.5%) chitosan with a value of (73.14), As for the Redness (a), the addition of chitosan with a percentage of 0.5% had no significant effect, and the redness of the crumb slightly increased with an increase in the chitosan percentage, and the

addition of (1-0.5%) chitosan had no effect on the Yellowness (b) in the crumb. The crust color results show that the (L) values declined with increasing the chitosan concentration (1-1.5%) while there is no significant effect observed with addition of 0.5%. The color values (a) and (b) show no significant difference with chitosan addition of 0.5-1% compared to the control sample.

The moisture loss rate of the bread samples decreased with increasing the chitosan concentrations till the fifth day of storage. The finding showed a significant difference between the treatments of (1-1.5%) chitosan (35.88-35.53%) and between the control sample and chitosan 0.5% (34.57-34.72%). This finding suggests that it may delay the bread staling.

Water activity values in the control sample were higher than those in the bread with added fungal chitosan in the beginning of the storage, but with longer storage time the water activity in the control sample significantly decreased, whereas it had less of an impact on the bread with added fungal chitosan.

The bread firmness increased as the fungal chitosan concentration increased on the first day, although this increase did not affect the texture sensory evaluation. With longer storage period, the control sample hardness increased more while the less changes were observed when adding fungal chitosan. However, the results revealed no significant differences between the control sample and chitosan treatments (0.5-1%) on the fifth day of storage.

Moreover, the microbiological analysis of the bread samples revealed that the best preservation effect was in (1-1.5%) fungal chitosan, which showed no colonies growth during storage for up to the five day.

The addition of fungal chitosan at all concentrations (0.5-1-1.5%) as well as the addition of calcium propionate both inhibited the growth of natural molds and no mold growth was seen during the seven-day observation period.

In conclusion, the study results demonstrate that it is possible to prepare bread with an addition of up to 1% of fungal chitosan as a natural safe preservative, and it can be a successful application in bread industry as a replacement for synthetic preservatives.

Kingdom of Saudi Arabia
Ministry of Education
Qassim University
College of Agriculture and Veterinary medicine
Department of Food Science and Human Nutrition



Effect of Fungal Chitosan as a Natural Preservative on the Quality and Shelflife of Bread

Prepared by:

Lugain Fahad Saleh AL-Saikhan

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master Degree in the Department of Food Science and Human Nutrition – Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine –Qassim University

Examination and Decision Making Committee:

Committee members	Name	Academic Degree	Specialist action	Signature
Advisor	Dr. Ahmed Ali Alhassan	Associate Professor	Food Packaging	
Advisor	Dr. Sahar Hassan Salah	Professor	Food and Dairy Microbiology	
Internal Examiner	Dr. Mohamed Gadallah Elsayed	Professor	Cereal Technology	
Internal Examiner	Dr. Mohamed Farghaly Yoness	Associate Professor	Dairy Science	
Internal Examiner	Dr. Asmahan Azhari Ali	Assistant Professor	Food Biotechnology	

The Discussion Held on 12/6/1444 H – Corresponding 5/1/2023 AD

**Kingdom of Saudi Arabia
Ministry of Education
Qassim University
College of Agriculture and Veterinary Medicine
Department of Food Science and Human Nutrition**



Effect of Fungal Chitosan as a Natural Preservative on the Quality and Shelflife of Bread

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the
Master Degree in Food Science and Human Nutrition - Faculty of
Agriculture and Veterinary Medicine -Qassim University**

Prepared by:

Lugain Fahad Saleh AL-Saikhan

ID No. 391200366

Supervisors:

Dr. Ahmad Ali Al-Hassan

**Associate Prof. in Food Science and Human Nutrition Department
College of Agriculture and Veterinary Medicine - Qassim University**

Prof. Dr. Sahar Hassan Salah

**Prof. in Food Science and Human Nutrition Department
College of Agriculture and Veterinary Medicine - Qassim University**

(1444 H/ 2023)