تحضير الكايتوسان من سيقان فطر *Agaricusbisporus* ودراسة صفاته الفيزيوكيمياويةوأستعماله في المثلجات القشدية

أبتسام فاضل موسى
جامعة بغداد،كليةعلوم الهندسة الزراعية/قسم علوم الاغذية العرا ق،بغداد،

عباس فاضل شحاذة
العراق بغداد ، محافظة بغداد ، مديرية زراعة بغداد

Abbas_fadhil1986@yahoo.comEbtisamfadel12@gmail.com

المستخلص

جُمع سيقان فطر *Agaricusbisporus* والتي تم الحصول عليها من مزرعة فطر الودق / بغداد ، أُستخلص الكايتين من سيقان فطر *A. bisporus* بالطريقة الكيميائية بأستعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم ١ مولاري و ٢ % حامض الخليك ، بلغت نسبة الكايتين المستخلص من سيقان الفطر ٢٢.٥ %. حضر الكايتوسان من كايتين سيقان فطر *A. bisporus*بأستعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم تركيزه ٥٠ % عند درجة حرارة ١٠٠ مْ ولمدة ٢ ساعة. بلغت نسبة الكايتوسان سيقان الفطر ٤٤.٤ %.

شُخص الكايتوسان قيد الدراسة بتقنية Fourier Transform Infra Red(FTIR) ، بلغت درجة إزالة مجاميع الاسيتيلDegree ofDeacetylationللكايتوسان المنتج من سيقان فطر *A. bisporus* ٧٢.٦ % . بلغت لزوجة كايتوسان سيقان الفطر٥.٥ سنتي بويز عند تقدير اللزوجة بإذابة الكايتوسان في محلول ١ % حامض الخليك ، بلغ الوزن الجزيئي لكايتوسان سيقان الفطر ٦٠٤,٨٠٣ دالتون. تميز كايتوسان السيقان بذائبية عالية في محلول ١ % حامض الخليك إذ بلغت ٧٢ %. أظهر كايتوسان السيقان قابلية لربط الماء والدهن ، اذ بلغت ٦٧٤ و ٢٩٥ % .

أُستعمل الكايتوسان المنتج من سيقان الفطر *A. bisporus* في صناعة المثلجات القشدية عاملاً مثبتاً ومثخناً للقوام وبتركيز (٠.١ ،٠.٢٥ ، ٠.٥ ، ٠.٧٥) % وأستعمل مثبت كاربوكسي مثيل السليلوز Carboxy Methyl Cellulose (CMC) لمعاملة السيطرة بنسبة ٠.٥% ، اظهرت نتائج الفحوص الميكروبية لخلطات المثلجات القشدية المصنعة بأن العدد الكلي للبكتريا وعدد بكتريا القولون كان ضمن المدى المسموح بها حسب التشريعات العراقية للمحتوى الميكروبي في المثلجات القشدية . علاوة على ذلك ، لم تظهر اي نموات للبكتريا المقاومة للبرودة والخمائر والاعفان في جميع المعاملات .

سجلت المعاملة (٠.٢٥) % كايتوسان افضل الصفات الحسية من حيث النكهة و اللون والنسجة اذ سجلت (٤٩ / ٥٠ و ٢٠ / ٢٠ و ٢٩ / ٣٠) على التوالي ، مقارنة مع النماذج المعاملة بتركيز (٠.١ ، ٠.٥ ، ٠.٧٥) % من الكايتوسان والتي سجلت أقل قيماً لهذه الصفات .

المقدمة

يعد الفطر الأبيض *Agaricusbisporus* الأول على المستوى العالمي من حيث الانتاج ، اذ يشكل حوالي ١٤ % من انتاج الفطريات في العالم كما ان زراعته واطئة التكلفة الاقتصادية ولا تتطلب امكانيات وخبرة عالية (Owaid ., 2014) .

لقي الكايتينوالكايتوسانالمشتق منه اهتماماً كبيراً كمواد وظيفية حيوية في مجموعة واسعة من التطبيقات المختلفة في مجالات الاغذية والزراعة والطب والصيدلة ومستحضرات التجميل وصناعة الورق وتنقية المياه ، استعمالالكايتوسان في الصناعات الغذائية عاملاً رابطاً ومادة مثخنة لتكوين الهلام وعاملاً مثبتاً ومستحلباً ، اما فيلمخص معالجة مياه الصرف الصحي فيستعمل الكايتوسان عاملاً مخلبياً و مكتلاً للمواد الطافية الثقيلة OspinaÁlvarez (2014 *et al .*).

المصادر التجارية الرئيسة للكايتين هي القشريات مثل الروبيان وسرطان البحر ، في الاونة الاخيرة ازداد الاهتمام بالبحث عن مصادر لإنتاج الكايتوسان ، اذ تشير البحوث الى امكانية استخدام الفطريات كمصدر بديل لإنتاج الكايتينوالكايتوسان،إن عملية ازالة مجاميع الاسيتيل Deacetylationمن الكايتين لغرض انتاج الكايتوسان وهي عملية مهمة جداً للحصول على الكايتوسان ، اذ تحدد درجة ازالة

مجاميع الاسيتيل (DD %) صفات الكايتوسان المنتج مثل قابلية الذوبان والفعالية المضادة للميكروبات وغيرها من الميزات التطبيقية المصاحبة (Elsabee and Abdou, 2013;Cheng *et al.,* 2014) .

يحتوي الجدار الخلوي للفطريات القابلة للأكل على الكايتين والذي يمكن ان يستعمل مصدراً لإنتاج الكايتوسان ، أشارت العديد من البحوث حول امكانية انتاج الكايتوسان من الفطريات القابلة للأكل و منها الفطر *A. bisporus* لوفرة انتاجه و قصر دورة حياته ، وبالتالي ممكن أن يكون بديلا ناجحا لانتاج الكايتوسان ، الكايتين هو المكون الاساسي لجدار الخلية في الفطريات للمجموعات التصنيفية Zygomycetes و Ascomycetes وBasidiomycetes و Deuteromycetes (Kalac, 2013) .

ينتمي الفطر *A. bisporus* الى مجموعة Basidiomycetes وهو من أكثر أنواع الفطريات استهلاكاً على مستوى العالم ، ينتج عن زراعة هذا الفطر في العالم ملايين الاطنان من المخلفات والتي من الصعب التخلص منها ، وبالتالي يمكن الاستفادة منها في انتاج الكايتوسان الفطري، فضلاً عن ذلك لا يتطلب انتاج الكايتوسان فطراً عالي الجودة ، اذ يمكن الاستفادة من مخلفات مزارع انتاج الفطر والتي تشمل غالباً سيقان الفطر فضلاً عن الفطر الذي يتعرض الى ضرر ميكانيكي او الفطريات غير منتظمة الشكل والتي يمكن استغلالها في انتاج الكايتوسان الفطري (*et al.,*Zhang ٢٠١٢ *et al.,*Wu;٢٠٠٤) .

تحتوي الفطريات على نسبة قليلة من المعادن مقارنة مع القشريات البحرية ، لذلك فإن عملية استخلاصه تكون اقل كلفة من الكايتين المستخلص من القشريات فضلاً عن امكانية السيطرة على ظروف انتاج كايتوسان الفطريات بجودة عالية وامكانية انتاج الكايتوسان من الفطريات على مدار السنة كون انتاجه لا يتأثر بالموسم ويمكن انتاجه من مخلفات الفطريات (السيقان) لتقليل الكلفة الاقتصادية وحل مشكلة التخلص من مخلفات تنمية الفطريات (Di Mario *et al.,*2008) .

المواد وطرائق العمل :

تحضير الكايتينوالكايتوسانPreparation of chitin and chitosan

تم الحصول على سيقان الفطر *Agaricusbisporus* سلالة (Sylvan A 15) من مزرعة فطر الودق Al wadaq mushroom farm الكائنة في بغداد ، العراق . غسلت السيقان بالماء المقطر وقطعت الى شرائح صغيرة ثم جففت بدرجة حرارة ٥٠مْ لمدة ٤٠ -٤٨ ساعة ، طحنت المادة الجافة بوساطة طاحونة كهربائية للحصول على مسحوق الفطر (He*et al.,* 2014) .

حضر الكايتين من السيقان للفطر وفقا للطريقة التي ذكرها (٢٠٠٤) . Wu *et al* وحسب الخطوات الاتية :

١ - إزالة البروتين Deproteinization

أضيف محلول هيدروكسيد الصوديوم بتركيز ١ مولاري الى مسحوق الفطر بنسبة ١ : ٤٠ (و / ح) ووضع الانموذج في جهاز المكثف العكسي reflux condenser لمدة ٣٠ دقيقة وعلى درجة حرارة ٩٥مْ لغرض ازالة البروتين .

نبذت المواد القاعدية غير الذائبة (Alkalin Insoluble Materials (AIM المتحصل عليها بالطرد المركزي بسرعة ٦٠٠ دورة / دقيقة عند درجة حرارة ٢٢مْ ، غسلت عدة مرات بالماء المقطر لحين الوصول الى الرقم الهيدروجيني المتعادلpH = 7 ، جففت المواد القاعدية غير الذائبة (AIM) .

2- فصل الكايتين عن الكايتوسانIsolation of chitin and chitosan

أضيف ٢ % حامض الخليك الى المواد الجافة غير الذائبة (AIM) وبنسبة ١ : ١٠٠ (و / ح) ووضع الانموذج في جهاز المكثف العكسي لمدة ٦ ساعات وعلى درجة حرارة ٩٥مْ ، اجريت عملية النبذ المركزي بسرعة ٦٠٠ دورة / دقيقة عند درجة حرارة ٢٢مْ ، غسل الراسب الذي تم الحصول عليه بالماء المقطر و الايثانول بتركيز ٩٥ % لحين الوصول الى الرقم الهيدروجيني المتعادل pH = 7 ثم جففت للحصول على الكايتين.

٣ - قصر اللون Decolourisation

تم إجراء عملية قصر اللونللكايتينالمستحصل عليه بخلطه مع الاسيتون بنسبة ١ : ١٠ (و / ح) مع التحريك بسرعة ١٥٠دورة / دقيقة وبدرجة حرارة ٢٥ مْ بجهاز المسخن مع محرك مغناطيسي ، ومن ثم الترشيح بأستخدام ورق whatmann NO.2 وترك بدرجة الحرارة نفسها لمدة ٢ ساعة، ومن ثم خلط الكايتين مع هايبوكلورات الصوديوم بتركيز ٠.٣١٥٥ % وبنسبة ١ : ١٠ (و / ح) مع التحريك بسرعة ١٥٠ دورة / دقيقة لمدة ١٥ دقيقة عند درجة حرارة ٢٥ مْ ، ورشح بأستعمال ورق whatmann NO.2 ، غسل الراسب بالماء المقطر لحين الوصول الى الرقم الهيدروجيني المتعادل pH = 7 ثم جفدالكايتين (Srinivasan *et al.,* 2018) .

تم حساب نسبة التصافيللكايتين الناتج من سيقان الفطر *A.bisporus* وذلك بوزن الكايتين الناتج وحسب المعادلة الاتية :

$$\text{تصافي الكايتين } \% = \frac{\text{وزن الكايتين بعد التجفيد}}{\text{الوزن المستخدم من النموذج الاصلي}} \times 100$$

تحويل الكايتين الى كايتوسان

خلط الكايتين مع محلول هيدروكسيد الصوديوم ٥٠ % وبنسبة ١ : ٥٠ (و / ح) مع التسخين على درجة حرارة ١٠٠مْ لمدة ٢ ساعة ، بعد التسخين تركت العينة لمدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة ٢٥ مْ لغرض تبريدها ، تم ترشيح العينة بأستعمال ورق الترشيح whatman NO. 1 ، اهمل الراشح وتم تجفيد الراسب Vairamuthu *et al* ., (2018) ، تم حساب نسبة التصافيللكايتوسان الناتج من كايتين سيقان الفطر *A.bisporus*وذلك حسب المعادلة الاتية :

$$\text{تصافي الكايتوسان } \% = \frac{\text{الوزن الجاف للكايتوسان}}{\text{الوزن الجاف للكايتين}} \times ١٠٠$$

تشخيص الكايتوسان باستخدام جهاز FTIR

شُخص الكايتوسانالمحضرمن سيقان الفطر *A.bisporus*بأستخدام جهاز FTIR(Fourier Transform InfraRed Spectrophotometer) ، وذلك بمزج أنموذج الكايتوسان الجاف مع بروميد البوتاسيوم الجاف بنسبة (١ : ٥) بواسطة هاون خزفي لمدة ٢ دقيقة و ضغط المزيج بأستخدام ضاغطة هيدروليكية خاصة بجهاز FTIR وبضغط ٨ بار ولمدة ٦٠ ثانية ، وضع القرص في جهاز FTIR لغرض التحليل وبأستخدام تردد يتراوح بين ٤٠٠ - ٤٠٠٠ سم $^{-1}$ (Vaingankar and Juvekar, 2014) .

تقدير الخواص الفيزوكيميائيةللكايتوسان المحضر من سيقان الفطر *A.bisporus*

تقدير درجة ازالة مجاميع الاسيتيل(Degree of deacetylation (% DD :

قدرت درجة ازالة مجاميع الاسيتيل (DD) للكايتوسان اعتمادا على نتائج FTIR ، إذ تم احتساب الامتصاصية على الطول الموجي 1655 (A_{1655}) والذي يمثل مجموعة الكاربونيل الى الامتصاصية على الطول الموجي 3450 (A_{3450}) والتي تمثل امتصاصية مجاميع الامين Amine group والتي تعد بمثابة المقياس الداخلي standardInternal وذلك لكونها لا تتحلل ولا تتأثر بالمعاملات التي تجري عند استخلاص الكايتوسان . تم احتساب الامتصاصية بألاعتمادعلى قانون لامبرتبير Lambert – Beer Law) على وفق المعادلة الاتية :

$$A = 2 - \log T \%$$

تمثل A: الامتصاصية ، T: النفاذية

وتم احتساب درجة ازالة مجاميع الاسيتيل حسب المعادلة التي ذكرها (Maghsoodi*et al*. (2009 :

$$DD\ \% = 100 - [\ A_{1655}/A_{3450}\ ] \times 100/1.33$$

تقدير اللزوجة النسبيةDetermination Of Relative Viscosit

قدر الوزن الجزيئي للكايتوسان بالاعتماد على قياس اللزوجة اذ استخدمت معادلة Mark–Houwink–Sakurada equation (MHS) لاحتساب الوزن الجزيئي وحسب ما ذكر (Kasaai*et al*. (2000و كما يلي :

$$\text{Mark–Houwink–Sakurada equation (MHS)} = \eta = k\,[MW]^{a}$$

إذ إن قيم (k، a) ثوابت

$k = 1.49 \times 10^{-4}$ dl/gm

$a = 0.79$

η = اللزوجة سنتي بويز (cP)

MW = الوزن الجزيئي (دالتون)

تقدير الذائبية Determination of solubility

قدرت ذائبية الكايتوسان حسب الطريقة المذكورة من قبل Kim(2004)وذلك بوضع ٠.١ غم من الأنموذج في انبوبة نبذ مركزي معلومة الوزن ، مع اضافة ١٠ مل من محلول حامض الخليك ١ % ، وضعت الانابيب في حاضنة هزازة بسرعة ٢٤٠ دورة / دقيقة ولمدة ٣٠ دقيقة بدرجة حرارة ٢٥ مْ ، وضعت الانابيب في حمام مائي بدرجة حرارة الغليان لمدة ١٠ دقائق ، بردت الانابيب الى درجة حرارة ٢٥مْ ثم نبذت مركزياً بسرعة ١٠٠ دورة / دقيقة ، غسلت الدقائق غير الذائبة بمقدار ٢٥ مل من الماء المقطر ثم نبذت مركزياً مرة اخرى بنفس الطريقة مع اهمال الراشح وجففت الدقائق غير الذائبة عند درجة حرارة ٦٠مْ لمدة ٢٤ ساعة وتم حساب النسبة المئوية للذائبية من المعادلة الاتية :

(وزن الانبوبة و النموذج قبل اضافة حامض الخليك) - (وزن الانبوبة والنموذج بعد التجفيف النهائي)

الذائبية % = ـــ × ١٠٠

وزن النموذج الاصلي (غم)

تقدير قابلية ربط الماء والدهن

قيست قابلية ربط الماء Water binding capacity (WBC) وقابلية ربط الدهن Fat binding capacity (FBC) لنموذج كايتوسان سيقان الفطر *A.bisporus* وذلك بوزن انبوبة نبذ مركزي تحوي على ٠.٥ غم من الأنموذج مضاف اليه ١٠مل من الماء أو زيت زهرة الشمس ، مزجت الانابيب جيداً بمازج كهربائي vortex لمدة دقيقة واحدة وذلك لغرض تشتيت الأنموذج بعدها تركت بدرجة حرارة الغرفه مع مزج الانابيب كل ١٠ دقائق لمدة ٥ ثواني ، نبذت الانابيب بجهاز النبذ المركزي بسرعة ٢٤٠ دورة / دقيقة ، أهمل الراشح وتم وزن الانابيب مرة ثانية (No *et al.,* ٢٠٠٠) .

وتم حساب النسبة المئوية لربط الماء حسب المعادلة الاتية :

وزن الماء المرتبط (غم)

$$\text{قابلية ربط الماء \%} = \frac{\text{وزن العينة الاصلي (غم)}}{\text{وزن العينة الاصلي (غم)}} \times ١٠٠$$

***وزن الماء المرتبط = وزن العينه الاصلية قبل الطرد المركزي(غم) – وزن العينة بعد الطرد واهمال الراشح (غم)**

اما قابلية ربط الدهن فتم حسابها من المعادلة الاتية :

$$\text{قابلية ربط الدهن \%} = \frac{\text{وزن الدهن المرتبط (غم)}}{\text{وزن العينه الاصلي (غم)}} \times ١٠٠$$

تطبيق الكايتوسان المنتج في صناعة المثلجات القشدية

المكونات الداخلة في تصنيع المثلجات القشدية :

١ - المواد الاولية المستخدمة في التصنيع

- **الحليب :** استخدم الحليب المجفف كامل الدسمنوع NIDO والمجهز من شركة Nestle الفرنسية.
- **القشدة :** استخدمت القشدة الطازجة بنسبة دهن ٤٠ % والتي تم الحصول عليها من معمل البان كلية علوم الهندسة الزراعية – جامعة بغداد .
- **السكر :** استخدم سكر المائدة (السكروز) كمادة محلية في تصنيع المثلجات القشدية .
- **المواد المثبتة والمستحلبة :** تم دراسة استخدام السكر المتعدد (الكايتوسان) كمادة مثبتة ومستحلبة في تصنيع المثلجات القشدية وقورن تأثيرة في المثلجات مع المثبت Carboxy methyl cellulose (CMC) والمجهز من الاسواق المحلية كمعاملة سيطرة .

٢ - حضرت المثلجات القشدية بأستخدام المواد الاوليه وبالكميات الموضحة في الجدول (١-١) لتحضير ١ كغم من خليط المثلجات (سليم ، ١٩٨٦) :

جدول (١-١) نسب مكونات خلطات المثلجات القشدية

الخلطات	نسب المكونات %					المجموع
	حليب ٤% دهن	قشدة ٤٠ % دهن	سكر	كايتوسان	CMC	
% ٠.١	٧٠.٧	١٣.١	١٦.١	٠.١	/	١٠٠
% ٠.٢٥	٧٠.٦	١٣.١	١٦.٠٥	٠.٢٥	/	١٠٠
% ٠.٥	٧٠.٥	١٣	١٦	٠.٥	/	١٠٠
% ٠.٧٥	٧٠.٤	١٢.٩	١٥.٩٥	٠.٧٥	/	١٠٠
السيطرة	٧٠.٥	١٣	١٦	/	٠.٥	١٠٠

٣ - استعمل الكايتوسان قيد الدراسة كمثبت في الانتاج و بتراكيز (٠.١ ،٠.٢٥ ، ٠.٥ ، ٠.٧٥ %) كما استعمل مثبت CMC لمعاملة السيطرة (Control) بنسبة ٠.٥% و لم يضف الى الخليط أي نوع من الالوان او المطيبات ليكون ممكنا تقويم المنتوج و ملاحظة أي نكهات او ألوان غريبة قد تنتج عند إضافة الكايتوسان قيد الدراسة .

٣ ـ ٩ ـ ٢ : الفحوص الميكروبية لمكونات خلطات المثلجات القشدية

أجريت الفحوص المايكروبية للمكونات الداخلة في تصنيع المثلجات القشدية وفقا للطرائق القياسية للفحص الصادرة من جمعية الالبان الامريكية وكما ذكر Ahmed and El Zubeir, (2015) والتي شملت :

أ ـ العدد الكلي للبكتريا (Total bacterial count)

نقل ١.٠ مل من التخافيف العشرية للمنتوج النهائي الى أطباق بتري معقمة وأضيف إليها وسط Nutrient agar وحضنت في درجة حرارة ٣٧م مْ ٢٤ ساعة وحسب العدد البكتيري .

ب – العدد الكلي للبكتريا المقاومة للبرودة (Psychrotroph)

نقل ١.٠ مل من التخافيف العشرية للمنتوج النهائي الى اطباق بتري معقمة وأضيف إليها وسط Nutrient agar وتم الحضن في درجة حرارة ٧مْ لمدة ٧- ١٠ أيام وحسب العدد البكتيري .

ت- العدد الكلي لبكتريا القولون (Coliform count)

نقل ١.٠ مل من التخافيف العشرية من المنتوج النهائي الى أطباق بتري معقمة وأضيف إليها وسط Mac Conkey agar وتم الحضن في درجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ ساعة وحسب العدد البكتيري .

ث ـ عدد الاعفان والخمائر (Mold and yeast count)

نقل ١.٠ مل من التخافيف العشرية من المنتوج النهائي الى أطباق بتري معقمة وأضيف إليها وسط Potato Dextrose Agar وتم الحضن في درجة حرارة ٢٨ مْ لمدة ٥-٧ أيام وحسب العدد للاعفان والخمائر .

٣ ـ ٩ ـ ٣ : تصنيع المثلجات القشدية

حضرت المثلجات القشدية وفقاً لما ذكره (٢٠١٥) El-Sisi مع اجراء بعض التعديلات ، خلطت المواد الاولية وبالكميات المذكورة في جدول (١-١) مع بسترة الخليط على درجة حرارة ٨٥ م مْ لمدة ١٠ دقائق ، برد الخليط الى درجة حرارة ٥ م مْ مع التجنيس وعتق الى اليوم التالي ثم جمد الخليط ، استعملت ماكنة كهربائية منزلية نوع (Kenwood) معدة لهذا الغرض . تم تعبئة الخليط في اقداح بلاستيكية ذات غطاء محكم (سعة ١٢٠ مل) وحفظت بالمجمدة بدرجة حرارة -١٨ مْ .

٣ ـ ٩ ـ ٤ : الفحوص الميكروبية للمثلجات القشدية المصنعة

اجريت الفحوص الميكروبية لخلطات المثلجات القشديةوفقا للطرائق القياسية للفحص الصادرة من جمعية الالبان الامريكية وكما مذكور في الفقرة (٣-٩-٢) .

٣ ـ ٩ ـ ٥ : التقييم الحسي

قوم المنتوج حسياً من قبل (٨) مقومين من اساتذة مختصين وطلبة الدراسات العليا في قسم علوم الاغذية - كلية علوم الهندسة الزراعية - جامعة بغداد وبحسب استمارة التقويم الخاصة بالمثلجات القشدية (El-ansary ، ٢٠١٤) .

استمارة التقييم الحسي للمثلجات القشدية

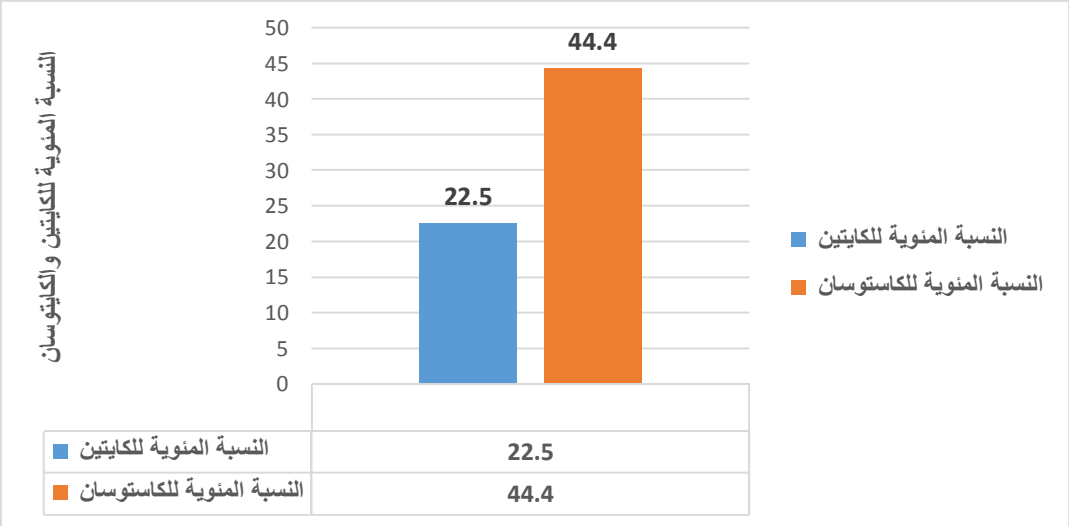
الصفة	الدرجة		المعاملة		السيطرة
النكهة	٤٥ ــ ٥٠				
اللون	١٥ ــ ٢٠				
القوام والنسجة	٢٥ ــ ٣٠				

التحليل الاحصائي

اعتمد البرنامج الاحصائي SAS- Statistical Analysis System (٢٠١٢) في تحليل البيانات لغرض دراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة وفق تصميم عشوائي كامل (CRD)، وقورنت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار اقل فرق معنوي (LSD) .

النتائج والمناقشة :

بلغت النسبة المئوية لأستخلاصالكايتين من سيقان فطر *A. bisporus* ٢٢.٥ % وهذه النسبة اقل مما وجده (٢٠٠٤) Wu *et al.* عنداستخلاصالكايتين من سيقان الفطر *A. bisporus* والتي بلغت ٢٧ % . يعزى الاختلاف في الحصيلة النهائية للكايتين الى ان الدراسة الاخيرة اعتمدت على تخزين سيقان الفطر المستخدمة لأنتاجالكايتين في ظروف مختلفة خلال ٥ - ١٥ يوم عند درجة حرارة ٤ - ٢٥مْ وبالتالي يزداد محتوى الجدران الخلوية لمكونات الفطر *A.bisporus* عند خزنه بعد الحصاد عند درجة حرارة الغرفة (١٩٧٩) Hammond. بلغت النسبة المئوية لعملية تحويل الكايتين الى كايتوسان٤٤.٤ % وهذه النسبة أعلى مما وجده Yen and Mau (2006) عند انتاج الكايتوسان من كايتين سيقان فطر *shiitake* والتي بلغت ١٩.١٤% ويفسر سبب هذا الاختلاف في النسبة الى اختلاف طريقة التحضير وكذلك اختلاف نوع الفطر الشكل (١-١) .

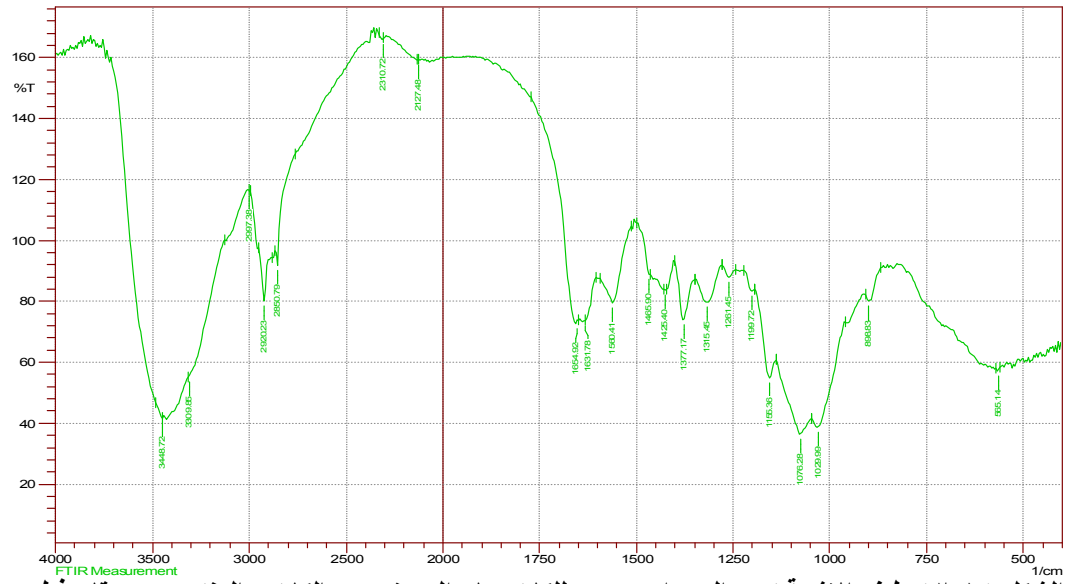


الشكل (١-١) النسبة المئوية للكايتينوالكايتوسان المستخلص من سيقان الفطر *A.bisporus*

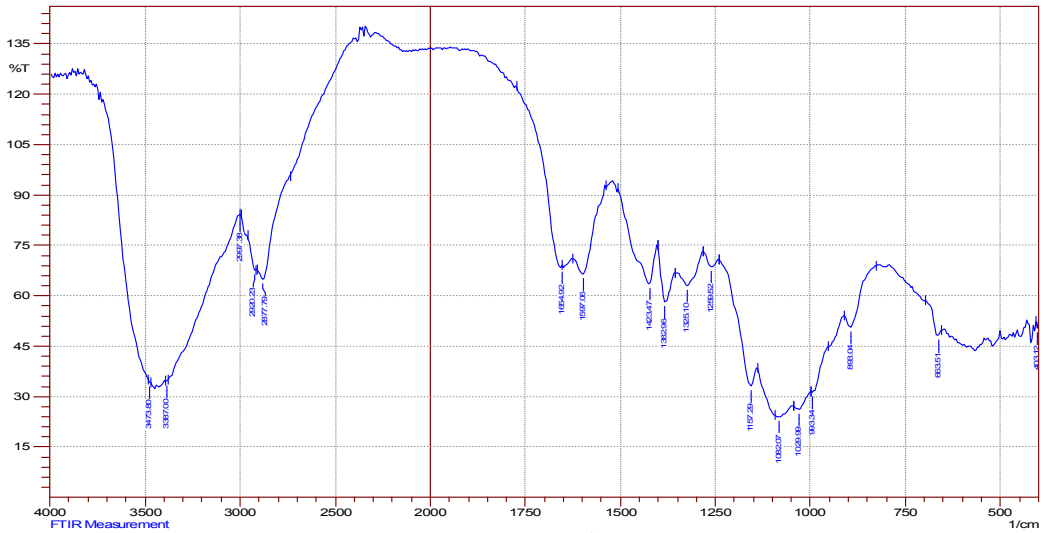
يوضح الشكل (١-٢) طيف FTIR لأنموذج الكايتوسان المنتج من سيقان فطر *A.bisporus* مقارنة بالشكل (١-٣) طيف FTIRلأنموذج الكايتوسان التجاري انموذجاً قياسياً . ان اكثر المجاميع الفعالة اهمية هي مجموعة الامايد(amide group) والتي ظهرت قمة امتصاصيتها عند التردد 1654.92cm^{-1}من هذا الطيف لنموذجي الكايتوسان ، ويعد ظهور هذه المجموعة دليلاً لوجود الكايتوسان (Vaingankar and Juvekar, 2014) . ان المجموعة الفعالة التي تمثل حزمة الامتداد لمجموعة الهيدروكسيل (hydroxyl stretching band) والتي ظهرت قمة امتصاصيتها في كايتوسان السيقان والكايتوسان التجاري عند التردد ٣٤٤٨ cm^{-1} و ٣٤٧٣ cm^{-1} على الترتيب ، علماً بأن هذه المجموعة تظهر في الكايتوسانوالكايتين على حد سواء وذلك لكونها لا تتأثر بعملية ازالة مجاميع الاستيل او عمليات التحلل وبذلك فهي تعد مرجعاً قياسياً داخلياً (Internal standard) للتأكيد على وجود الكايتوسان او الكايتين (Ebrahimzadeh *et al* . 2013) .

إن حزم مجموعة الامايد (amide bands) للكايتوسان المنتج من سيقان الفطر *A.bisporus* ظهرت قمة امتصاصيتها عند الترددات ما بين ٣٢٠٠ - ٣٦٠٠ ، وهذه النتائج قريبة لما ذكره (٢٠١٩) . Wu *et al* والذي أشار الى أن حزم مجموعة الامين للكايتوسان المنتج من الفطر *A. bisporus* تظهر قمة امتصاصيتها عند الترددات $3200\ cm^{-1}$ و $3300\ cm^{-1}$ و $3330\ cm^{-1}$. ان الاصرة الكلايكوسيدية المميزة لـ β- anomer للكايتوسان فقد ظهرت قمة امتصاصيتها عند التردد $898\ cm^{-1}$ للكايتوسان المنتج من سيقان فطر *A. bisporus* ، تتفق هذه النتيجة مع ما ذكره (٢٠١٩) Wu *et al.* والذي ذكر أن الآصرة الكلايكوسيدية تظهر عند التردد $897\ cm^{-1}$.

بين Bilbao-Sainz *et al.* (2017) أن الآصرة الكلايكوسيدية للكايتوسان المنتج من سيقان الفطر ظهرت عند التردد $894\ cm^{-1}$. واعتماداً على النتائج المستحصل عليها أعلاه تم تشخيص الكايتوسان اعتمادا على تحديد المركبات العضوية الفعالة الموجودة فيه .

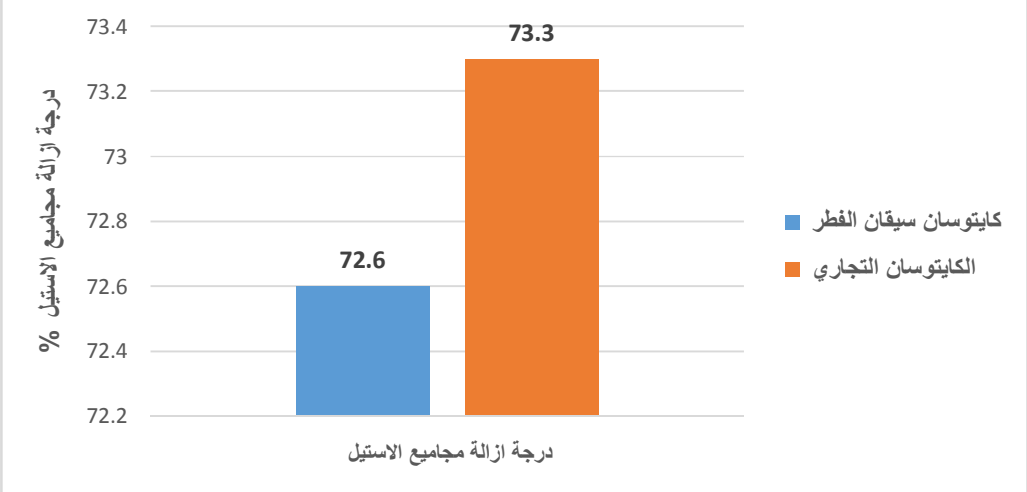


الشكل (١-٢) طيف الاشعة تحت الحمراء FTIR للكايتوسان المحضر من الكايتين المنتج من سيقان فطر *A. bisporus*



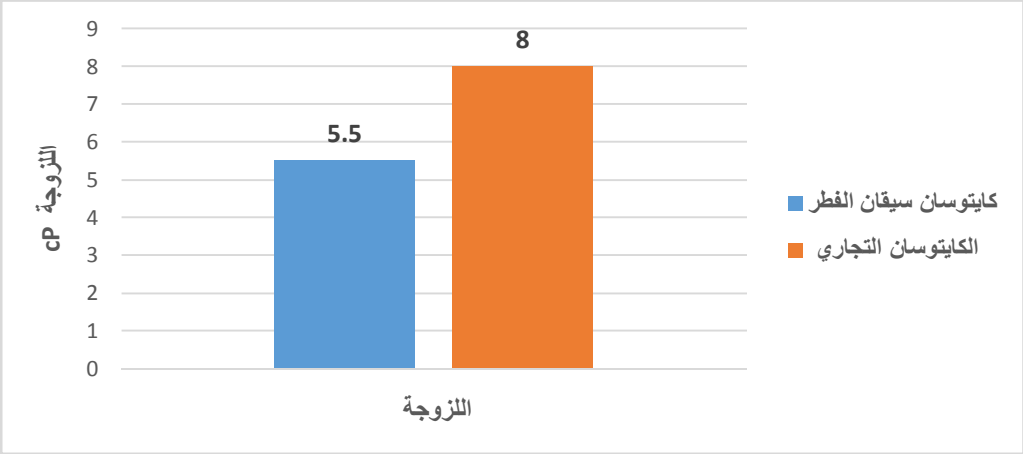
الشكل (١-٣) طيف الاشعة تحت الحمراء FTIRللكايتوسان التجاري

بلغت النسبة المئوية لدرجة ازالة مجاميع الاستيل DD % للكايتوسان التجاري ٧٣.٣ % ، في حين بلغت في الكايتوسان المنتج من كايتين سيقان الفطر *A.bisporus* ٧٢.٦ % ، وجد Kaya ,*et al.* (٢٠١٥) عند تقديره لدرجة ازالة مجاميع الاستيل للكايتوسان الناتج من تحويل كايتين فطر *Fomitopsis pincola* والتي بلغت ٧٣.١ % ، في حين أشار MauYen and(٢٠٠٦) الى أن نسبة درجة ازالة مجاميع الاستيل للكايتوسان المنتج من سيقان فطر *shiitake* قد بلغت ٩٠.٢ % . شكل (١-٤)



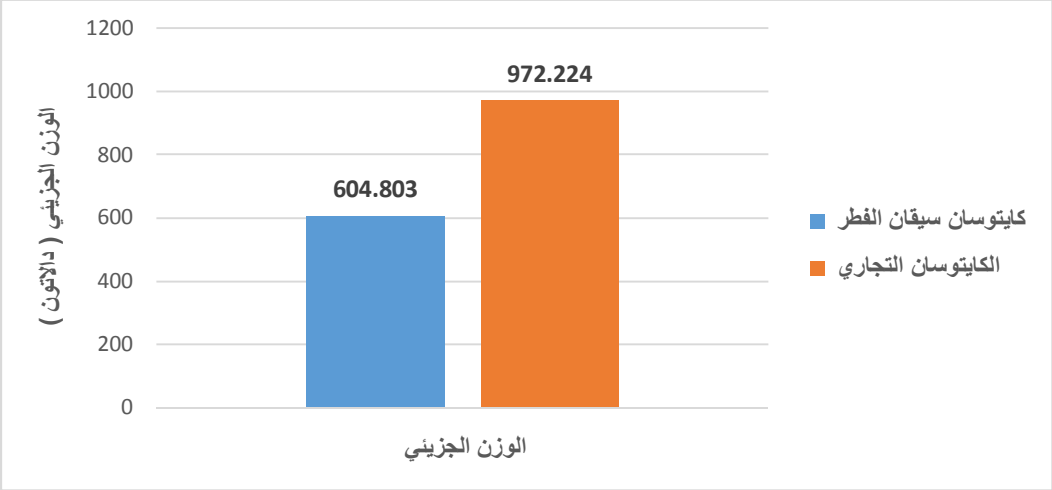
الشكل (١-٤) درجة ازالة مجاميع الاستيل للكايتوسان المنتج من سسيقان الفطر والكايتوسان التجاري

بلغت لزوجة الكايتوسان المحضر من كايتين سيقان فطر *A. bisporus* والكايتوسان التجاري (٥.٥ ، ٨) سنتي بويز على التوالي ، قدر (٢٠١٧) Elem and Uraku لزوجة الكايتوسان المنتج من فطر *Pleurotusostreatus* والتي بلغت ٥.٥ سنتي بويز ، كما أشار (٢٠١٣) . *etal*Ebrahimzadeh بأن لزوجة الكايتوسان المنتج من فطر *viridicatumPenicillium* قد بلغت ٨.٩ سنتي بويز ، وجد (المساري ، ٢٠١٩) ان لزوجة الكايتوسان المحضر من الجسم الثمري للفطر *A. bisporus* قد بلغت ٦.٧ سنتي بويز . إن الاختلاف في لزوجة الكايتوسان المنتج قد يعزى الى الاختلاف في مصدر الكائن المنتج للكايتوسان او الاختلاف في الطريقة المتبعة لتحضير الكايتوسان أو اختلاف طريقة تقدير اللزوجة . شكل (١-٥) .



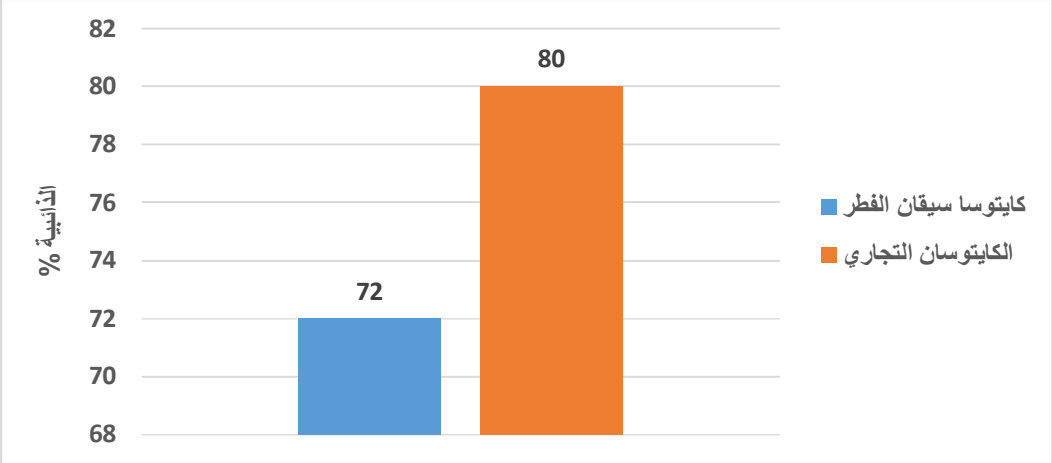
الشكل (١-٥) لزوجة كايتوسان سيقان الفطر والكايتوسان التجاري

بلغ الوزن الجزيئي للكايتوسان المنتج من سيقان فطر *A. bisporus* ٦٠٤,٨٠٣ دالتون ، بين (Mau and Yen (2006أن الوزن الجزيئي للكايتوسان المنتج من سيقان فطر *shiitake* stipes بلغ ٣٨٢,٧٣٠ دالتون . وجد (Pochanavanich and Suntornsuk (2002 ان الوزن الجزيئي للكايتوسان المنتج من الفطر *Pleurotus sajo-caju* قد بلغ ١١٠,٠٠٠ دالتون ، ذكر(المساري ،٢٠١٩) ان الوزن الجزيئي للكايتوسان المحضر من الجسم الثمري لفطر *A. bisporus* قد بلغ ٧٧٦,٠٩١ دالتون . الاختلاف في الوزن الجزيئي قد يعود الى نوع الفطر و طريقة التحضير المتبعة . أما الوزن الجزيئي للكايتوسان التجاري فقد بلغ 972,224 دالتون. شكل (١- ٦) .



الشكل (١-٦) الوزن الجزيئي (دالتون) لكليتوسا سيقان الفطر والكايتوسان التجاري

بلغت ذائبية الكايتوسان المنتج من سيقان فطر *A. bisporus* ٧٢ % . وهذه النتيجة أعلى مما وجده Elem and Uraku (٢٠١٧) عند تقديره ذائبية الكايتوسان المنتج من فطر *Pleurotus tueragium* و فطر *Pleurotus ostreatus* والتي بلغت ٦٠ و ٤٠ % على التوالي ، وقد يعود هذا التباين في الذائبية الى نوع الفطر وطريقة تقدير الذائبية . وجد Alabaraoye *et al* (2018) بأن ذائبية الكايتوسان المنتج من مخلفات القشريات البحرية قد بلغت ٨٥.٧١ % ، في حين بلغت ذائبية الكايتوسان التجاري ٨٠ % ، الشكل (١-٧) .



الشكل (١ - ٧) النسبة المئوية لذائبية الكايتوسان المنتج من سيقان الفطر والكايتوسان التجاري

تطبيق الكايتوسان المنتج من سيقان فطر *A. bisporus* في صناعة المثلجات القشدية

تبين من النتائج في الجدول (٢-١) بعدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية ($P<0.05$) في الصفات المدروسة ، وافضل تقييم للنكهة حصلت عليه معاملة استخدام الكايتوسان بتركيز ٠.٢٥ % اذ بلغ متوسط الدرجات الممنوحة لهذه المعاملة ٤٩ وهي اعلى من الدرجة الممنوحة لمعاملة السيطرة . اما بالنسبة للقوام و النسجة فكانت المتوسطات متقاربة لمعاملات استخدام الكايتوسان ، وافضل تقييم للقوام والتركيب حصلت عليه معاملة استخدام الكايتوسان بتركيز ٠.٢٥ % اذ بلغ متوسط الدرجات الممنوحة لهذه المعاملة ٢٩

، و هي مطابقة للدرجة الممنوحة لمعاملة السيطرة ، و هذا يدل على ان للكايتوسان تأثير ايجابي في تحسين قوام وتركيب المنتوج من حيث اعطاء المظهر المتجانس له وقوام ونعومة اكثر و هذا يعود الى لكون الكايتوسان له القدرة على الارتباط بالماء وله القدرة على التميؤ وبالتالي يزيد لزوجة مخاليط المثلجات واعطاء القوام المطلوب للمنتوج بعد التجميد (El-Sisi , ٢٠١٥) . ذكر (موسى ، ٢٠٠٨) ان للسكريات المتعددة اهمية في التصنيع كمادة مثخنة فضلا عن الاهمية الصحية من خلال تحسين النظام المناعي وخفض نسبة الكولسترول وتسريع طرح المعادن الثقيلة من الجسم . اما فيما يخص اللون فتشير النتائج ان افضل تقييم حصلت عليه معاملة استخدام الكايتوسان بتركيز ٠.٢٥ % اذ بلغ متوسط الدرجات الممنوحة لهذه المعاملة ٢٠ وهي مطابقة للدرجة الممنوحة لمعاملة السيطرة كما يلاحظ من النتائج ان المعاملة ٠.٥ و ٠.٧٥ % حصلت على درجات اقل من المعاملة ٠.١ و ٠.٢٥ % وقد يعزى ذلك الى ميول المنتوج الى اللون الكريمي بزيادة تركيز الكايتوسان المستخدم .

جدول (١ - ٢) التقييم الحسي للمثلجات القشدية المصنعة باضافةالكايتوسان قيد الدراسة بتراكيز مختلفة (٠.١ ، ٠.٢٥ ، ٠.٥ ، ٠.٧٥) % والسيطرة المصنعة باضافةCMC تركيزه ٠.٥ %

المعاملة / الصفة	٠.١ %	٠.٢٥ %	٠.٥ %	٠.٧٥ %	السيطرة ٠.٥ %	قيمة LSD
النكهة	٤٦	٤٩	٤٥	٤٥	٤٨	NS
اللون	٢٠	٢٠	١٨	١٧	٢٠	NS
القوام والنسجة	٢٧	٢٩	٢٨	٢٨	٢٩	NS
المجموع	٩٣	٩٨	٩١	٩٠	٩٧	*٥.٠٧٣

* (P<0.05)، NS: غير معنوي.

*النتائجتمثلمتوسطثمانيةمقيمين

النتائج الميكروبية في المثلجات القشدية المصنعة

النتائج الميكروبية للمواد الداخلة في التصنيع

اظهرت نتائج المحتوى الميكروبي للمواد الاولية الداخلة في تصنيع المنتجات القشدية ان العدد الكلي للبكتريا و عدد بكتريا القولون في الحليب الداخل في التصنيع قد بلغ (١ × ١٠٢ و ١ × ١٠١) وحدة تكوين مستعمرة / غم على التوالي ، ولم تظهر نموات للبكتريا المقاومة للبرودة والخمائر والاعفان . كما ولم تظهر نموات في باقي المكونات الداخلة في التصنيع .

تشير هذه النتائج بأن العدد الكلي للبكتريا وعدد بكتريا القولون ضمن المدى المسموح بها حسب المواصفة القياسية العراقية والتي اشارت الى ان الحد الاقصى المسموح به للعدد الكلي للبكتريا و عدد بكتريا القولون في الحليب المجفف بأنواعه هو (٣ × ١٠٥ و ١ × ١٠٢) و . ت . م / غم على التوالي .

ذكر (٢٠١٩) Mahdi, ان العدد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون في عينات الحليب في الاسواق التجارية في بغداد قد بلغت بين (١ × ١٠١ – ١.١ × ١٠٥) و (١ × ١٠١ – ١ × ١٠٣) و . ت . م / غم على التوالي .

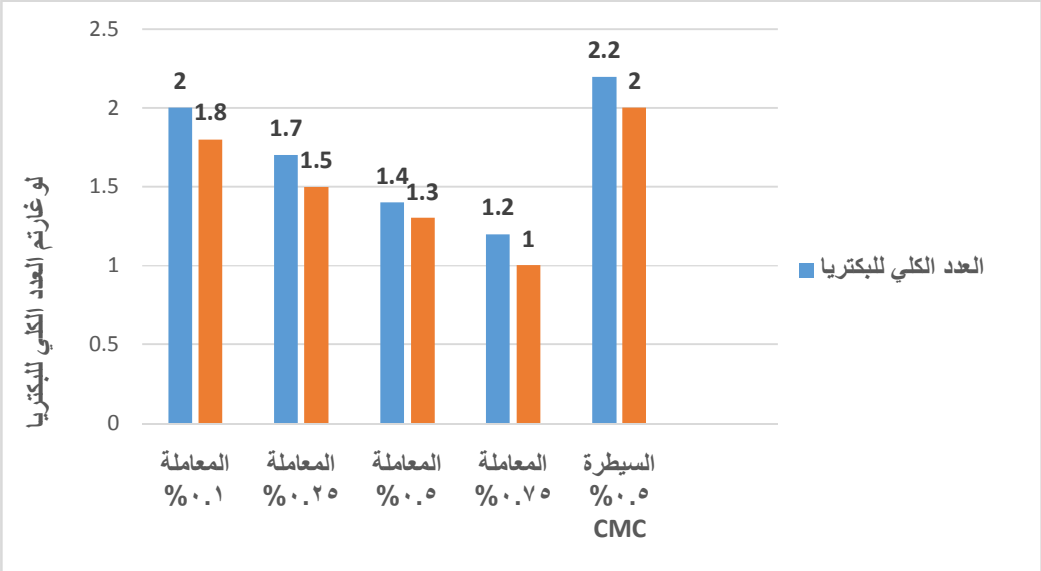
النتائج الميكروبية في المثلجات القشدية

يظهر شكل (١- ٨) نتائج المحتوى الميكروبي للمثلجات القشدية المصنعة ، اذ لوحظ ان العدد الكلي للأحياء المجهرية للخلطات المستخدم فيها الكايتوسان بلغ اقل من الخلطة القياسية لكل من العدد الكلي للبكتريا وبكتريا القولون ، كما لم تظهر الخلطات اي نموات للبكتريا المقاومة للبرودة والخمائر والاعفان .

وجد ان زيادة نسبة الكايتوسان المستعمل تسهم في خفض العدد الكلي للأحياء المجهرية وهذا يعود الى امتلاك الكايتوسان فعالية تثبيطية تجاه طيف واسع من الاحياء المجهرية وكذلك زيادة تركيز الكايتوسان يؤدي الى زيادة فعاليته ضد نمو الاحياء المجهرية Gutiérrez , 2017 ؛Fadhil and Ebtisam ,2020).

ذكر Ahmed(and El Zubeir, (2015 أن العدد الكلي للبكتريا و عدد البكتريا المقاومة للبرودة في الايس كريم قد بلغ (٣.٨ × ١٠٤ و ٣.٩ × ١٠٤) و . ت . م / غم على التوالي . في حين وجد (٢٠١٤)

El-ansary ، ان العدد الكلي للبكتريا وعدد بكتريا القولون في الايس كريم بلغ ما بين (١.١٢ × ١٠^٥ و ٤.٥٨ × ١٠^٣) و . ت . م / غم على التوالي .
تشير النتائج بأن العدد الكلي للبكتريا وعدد بكتريا القولون ادنى من الحدود المسموح بها حسب المواصفة القياسية العراقية والتي اشارت الى ان الحد الاقصى المسموح به للعدد الكلي للبكتريا و عدد بكتريا القولون في المثلجات القشدية هو (٢.٥ × ١٠^٥ و ١ × ١٠^٣) وحدة تكوين مستعمرة / غم ، على التوالي .



الشكل (١ - ٨) لوغارتم العدد الكلي للبكتريا وعدد بكتريا القولون لخلطات الايس كريم المصنعة

المصادر

سليم، رياض محمد(١٩٨٦) . المثلجات اللبنية .دار الكتب للطباعة والنشر –نينوى-العراق.

المساري،عباس فاضل شحاذه (٢٠١٩) .تحضير الكايتوسان من فطر *Agaricusbisporus* ودراسة صفاته الفيزيوكيمياويةوأستعماله في المثلجات القشدية . رسالة ماجستير . كلية علوم الهندسة الزراعية - جامعة بغداد .

موسى ، ابتسام فاضل (٢٠٠٨) .انتاج وتنقية وتوصيف البيتا – كلوكان من عزلة محلية من الخميرة Candida utilis SA3 مع بعض تطبيقاته . اطروحة دكتوراه . كلية علوم الهندسة الزراعية – جامعة بغداد

Ahmed, A. S., &Ibtisam, E. M. E. Z. (2015). Microbiological and sensory properties of low fat ice cream from camel milk using natural additives. *Annals. Food Science and Technology*, *16*, 236-244.

Alabaraoye, E., Achilonu, M., & Hester, R. (2018). Biopolymer (chitin) from various marine seashell wastes: isolation and characterization. *Journal of Polymers and the Environment*, 1-12.

Bilbao-Sainz, C., Chiou, B. S., Williams, T., Wood, D., Du, W. X., Sedej, I., ... & McHugh, T. (2017). Vitamin D-fortified chitosan films from mushroom waste. *Carbohydrate polymers*, *167*, 97-104.

Cheng, L. C., Wu, T. S., Wang, J. W., Wu, S. H., Chung, M. H., Kuo, Y. M., & Tsai, C. H. (2014). Production and isolation of chitosan from Aspergillusterreus and application in tin (II) adsorption. *Journal of Applied Polymer Science*, *131*(12).

Di Mario, F., Rapana, P., Tomati, U., & Galli, E. (2008). Chitin and chitosan from Basidiomycetes. *International journal of biological macromolecules*, *43*(1), 8-12.

Ebrahimzadeh, M. A., Chabra, A., Gharaei-Fathabad, E., &Pourmorad, F. (2013). Preparation of chitosan from Penicillium spp. and determination of their degree of deacetylation.

El-Ansary, M. A. (2014). Hygienic Quality of Vanilla Ice Cream Sold at Local Market. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, *44*(1).

Elem, R.C., Uraku, A. J. (2017). Physicochemical properties of Chitosan from Seven Different Wild Edible Nigerian Mushrooms. *Research Journal of Pharmacology Amd Pharmacy*, *1:4*, 1–8.

Elsabee, M. Z., &Abdou, E. S. (2013). Chitosan based edible films and coatings: A review. *Materials Science and Engineering: C*, *33*(4), 1819-1841.

El-Sisi, A. S. (2015). Impact of replacement of gelatin with chitosan on the physicochemical properties of ice-milk. *Int. J.*

Fadhil.AandEbtisam F. M. (2020) .Antimicrobial Activities of Chitosan Produced from *Agaricusbisporus*Stalks.International Journal of Plant Archives. Accepted Publication.20(1).

Gutiérrez, T. J. (2017). Chitosan Applications for the Food Industry. In *Chitosan*. https://doi.org/10.1002/9781119364849.ch8

Hammond, J. B. (1979). Changes in composition of harvested mushrooms (Agaricusbisporus). *Phytochemistry*, *18*(3), 415-418.

He, J., Zhang, A., Ru, Q., Dong, D., & Sun, P. (2014). Structural characterization of a water-soluble polysaccharide from the fruiting bodies of Agaricusbisporus. *International journal of molecular sciences*, *15*(1), 787-797.

Kalač, P. (2013). A review of chemical composition and nutritional value of wild-growing and cultivated mushrooms. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *93*(2), 209-218.

Kasaai, M. R., Arul, J., &Charlet, G. (2000). Intrinsic viscosity–molecular weight relationship for chitosan. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, *38*(19), 2591-2598.

Kaya, M., Akata, I., Baran, T., &Menteş, A. (2015). Physicochemical properties of chitin and chitosan produced from medicinal fungus (Fomitopsispinicola). *Food Biophysics*, *10*(2), 162-168.

Kim, S. F. (2004). Physicochemical and functional properties of crawfish chitosan as affected by different processing protocols.Thesis.Master of science. Agriculture and Mechanical college. Lonisiana State University.

Maghsoodi, V., Razavi, J., &Yaghmaei, S. (2009). Production of chitosan by submerged fermentation from Aspergillusniger. *ScientiaIranica. Transaction C, Chemistry, Chemical Engineering*, *16*(2), 145.

Mahdi, K. M. (2019). Microbiological Quality of Milk, Cheese, Yogurt and ICE Cream in Baghdad City Markets. *Prof. RK Sharma*, *13*(1), 287.

No, H. K., Cho, Y. I., Kim, H. R., & Meyers, S. P. (2000). Effective deacetylation of chitin under conditions of 15 psi/121 C. *Journal of agricultural and food chemistry*, *48*(6), 2625-2627.

OspinaÁlvarez, S. P., RamírezCadavid, D. A., Escobar Sierra, D. M., Ossa Orozco, C. P., Rojas Vahos, D. F., Zapata Ocampo, P., &Atehortúa, L. (2014). Comparison of extraction methods of chitin from Ganodermalucidum mushroom obtained in submerged culture. *BioMed research international*, *2014*.

Owaid, M. N . ;. S. S. SajidS and A. A. Idham, (2014).Impact Palm Date Fibers (Fibrillum) and Sawdust extract on Mycelial Growth Rate of Four Species of *Pleurotus*.JournalTikrit Univ. ISSN-1813-164.V (14)P1-7.

Pochanavanich, P., &Suntornsuk, W. (2002). Fungal chitosan production and its characterization. *Letters in applied microbiology*, *35*(1), 17-21.

SAS. (2012). Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 9.1th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

Srinivasan, H., Kanayairam, V., &Ravichandran, R. (2018). Chitin and chitosan preparation from shrimp shells Penaeusmonodon and its human ovarian cancer cell line, PA-1. *International journal of biological macromolecules*, *107*, 662-667.

Vainganker, P. N., &Juvekar, A. R. (2014). Fermentative production of mycelial chitosan from zygomycetes: media optimization and physico-chemical characterization. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, *5*(12), 940.

Vairamuthu, G. M., Peter, J. J. R., Jerley, A., &Dhandapani, S. (2018). Effect of Chitosan in Radical Scavenging and Bactericidal Activity Isolated from Agaricusbisporus Mushroom. *Int. J. Life. Sci. Scienti. Res. eISSN*, *2455*(1716), 1716.

Wu, J., Niu, Y., Jiao, Y., & Chen, Q. (2019). Fungal chitosan from Agaricusbisporus (Lange) Sing. Chaidam increased the stability and antioxidant activity of liposomes modified with biosurfactants and

loading betulinic acid. *International journal of biological macromolecules*, *123*, 291-299.

Wu, T., Zivanovic, S., Draughon, F. A., &Sams, C. E. (2004). Chitin and chitosan value-added products from mushroom waste. *Journal of agricultural and food chemistry*, *52*(26), 7905-7910.

Yen, M. T., & Mau, J. L. (2006). Preparation of fungal chitin and chitosan from shiitake stipes. *Fungal Science*, *21*(1-2), 1-11.

Zhang, Z., Song, H., Peng, Z., Luo, Q., Ming, J., & Zhao, G. (2012). Characterization of stipe and cap powders of mushroom (Lentinusedodes) prepared by different grinding methods. *Journal of Food Engineering*, *109*(3), 406-413.