DOI: https://doi.org/10.35516/jjas.v20i1.603

Impact of Biscuits Fortified with Isolated Sulfated Polysaccharides from *Cladophora Fracta*: Rheological, Functional and Sensory Properties.

Mohanad Khaled Jasem[1], *Abd- Alwahab Merai*[1] *and Adnan Ali Nizam*[2]

[1] Department of Food sciences, Faculty of agriculture, Damascus University, Damascus, Syria.

[2] Department of Plant Biology, Faculty of Science, Damascus University, Damascus, Syria

Received on 30/10/2023 and Accepted for Publication on 29/8/2023.

ABSTRACT

The research axes are directed toward integrating biotechnology with the manufacture of functional foods. This research aimed to extract sulfated polysaccharides (SPs) from green freshwater algae Cladophora fracta using ultrasonic-assisted extraction methods and acetone 70% as a solvent, then purify it by Sephadex gel G-100 chromatography, and determine its components, also to investigate its effect on the dough rheological properties, and on increasing the antioxidant properties of biscuits. The yield from the extraction process was 12.2%, which was subjected to the purification process to give two fractions F1 and F2. Results show that the purified SPs consists of sugar units, protein, uranic acids, and a sulfate group, based on the near-infrared spectrum (FT-IR). We determined the quantity contents in personages in fractions F1 and F2: (60,68.2)% carbohydrate; (2.41,1.38)% protein; (18.9,10.90)% uronic acids; 8.55,9.5% sulfate respectively, and the antioxidation activity of crude, F1, and, F2 on 10% concentration were (34,35,35.3)%, respectively based on DPPH• test, and (7,18,12)% respectively based on ABTS•+ test. The sugar units consisted of four monosaccharides (galactose 11.8%, rhamnose10.9%, xylose10.3%, and arabinose 12.9%) based on high-performance liquid chromatography (HPLC). Adding purified SPs (F1 and F2) to durum wheat flour at rates of (0.5, 1,1.5)% affected the rheology properties, and changed Farinograph and extensograph indicators. Fractions from SPs are redox agents; they reduce Dough development time and Stability time compared to control, which has development and Stability times of 3.9 and 3.6 minutes, respectively. This addition also increased the extensibility of the dough, the increase in extensibility was accompanied by an increase in the concentration of F1 and F2, and the highest values of extensibility were 158 and 160 mm, respectively when adding F1 and F2 to flour at 1.5% percentages. This indicates an increase in the weakness of the dough, while this addition causes a decrease other than the extensograph indicators. F2 was added in proportions of 0.5, 1, and 1.5% to wheat flour to manufacture biscuits fortified with SPs, the increased percentages of SPs caused darkness for biscuits. The sensory evolution was done, and all reviewers agreed that the treatment with 1 % of F2 was the best in accept, and this addition increased the anti-oxidative activity of fortified biscuits based on the test of DPPH• and ABTS+• throughout the storage period. This increase was accompanied by an increase in the percentage of SPs compared to the control, where the 50% inhibitory concentration scavenging of free radicals 50% (IC50) in the control treatment was 5.37 g/g for the DPPH• test and 5.72 g/g for the ABTS• + test, while the treatment that was used with it 1.5% of F2 was0.16 g/g for

* Corresponding author E-mail: mohanad.kj83@damascusuniversity.edu.sy

© 2024 DSR Publishers/The University of Jordan. All Rights Reserved.

This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY-NC) license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0 /)

the DPPH• test and 0.01 g/g for the ABTS+• test, which did allow the manufactured biscuit to be a functional food.

Keywords: Cladophora fracta, sulfate polysaccharides, chemical characterization, rheology properties, biscuit, antioxidation

تأثير البسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المعزول من طحلب كلادوفورا فراكتا (Cladophora fracta): الخصائص الريولوجية والوظيفية والحسية

مهند خالد جاسم[1]*، عبد الوهاب مرعي[1]، عدنان علي نظام [2]

[1] قسم علوم الأغذية، كلية الزراعة، جامعة دمشق
[2] قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق

تاريخ استلام البحث 2022/10/30 وتاريخ قبوله 2023/8/29

ملخص

إن المحاور البحثية تتجه إلى دمج التقنية الحيوية مع تصنيع الأغذية الوظيفية، حيث يهدف هذا البحث إلى استخلاص عديد السكارايد الكبريتي من طحلب كلادوفورا فراكتا (طحلب الماء العذب الأخضر) بتقنية الأمواج فوق الصوتية واستعمال الأسيتون 70% كمذيب، ثم تنقيته باستعمال هلام الترشيحG-100 الكروماتوغرافي وتحديد مكوناته، إضافة إلى التحري عن تأثيره على الخواص الريولوجية للعجين، وعلى زيادة الخواص المضادة للتأكسد في البسكويت. بلغ المردود من عملية الاستخلاص 12.2%، الذي أخضع لعملية التنقية بهلام الترشيح ليعطي قمتين من الأجزاء المفصولة تدعى F1 وF2، وتبين أن عديد السكارايد الكبريتي المنقى يتكون من وحدات سكرية، بروتين، أحماض يورانية ومجموعة السلفدريل بناءً على طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة .(FT-IR)وتم تقدير هذه المكونات بالنسبة المئوية كربوهيدرات) 60.06 و68.2 (%، بروتين) 2.41 و1.38 (%، أحماض يورانية) 18.9 و10.90 (%، سلفات) 8.55 و9.5 (% على التوالي. وتم تقدير الفعالية المضادة للتأكسد لعديد السكارايد الخام والمنقى منه F1) و (F2على تركيز 10 % بناءً على اختبار :˙ 35 , (34 DPPH، %)34.3 على الترتيب، أما بناءً على اختبار % (7, 18, 12) $ABTS^{+\cdot}$:على التوالي. وبناءً على التحليل الكروماتوغرافي السائل عالي الأداء تألفت الوحدات السكرية من أربعة سكريات بسيطة مختلفة (الجلاك توز11.8 %، ال رامنوز10.9 %، الكزايلوز 10.3 %والأرابينوز 12.9 %). تم إضافة الأجزاء المفصولة المكونة لـ F1و F2 من عديد السكارايد الكبريتي المنقى إلى دقيق القمح الصلب بنسب (0.5 , 1 ,) 1.5 % على التوالي, وقد أثرت كلا القمتين على الخواص الريولوجية للعجين, وغيرت في مؤشرات الفارينوغراف والإكستنسوغراف؛ وقد ادت الى تخفيض زمن تطور العجين و ثباته مقارنة مع الدقيق بدون إضافتهما: 3.9 و 3.6 دقيقة على التوالي. كما عملت هذه الإضافة على زيادة مرونة العجين، حيث ترافقت زيادة قيم المرونة بازدياد تركيز F1 وF2، وكانت الأعلى عند استعمال التركيز 1.5 % من عديد السكارايد الكبريتي المنقى المضاف، حيث كانت 158 و160 مم على التوالي، مما يشير إلى ازدياد ضعف العجين، وأدّت إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى على انخفاض في بقية مؤشرات الإكستنسوغراف . ادت اضافة الأجزاء المفصولة المكونة للقمة F2 بنسب (0.5 , 1، 1.5) % إلى دقيق القمح بغرض تصنيع البسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي الى ارتفاع نسبة عديد السكارايد الكبريتي المضاف مما جعل البسكويت أكثر قتامة، وتم إجراء التقييم الحسي للبسكويت المدعم، حيث اتفق جميع المحكمين بأن المعاملة التي استعمل معها عديد سكارايد كبريتي بنسبة 1% هي الأفضل من حيث القبول العام. كما أدى تدعيم البسكويت بعديد السكارايد الكبريتي المنقى F2 إلى زيادة الفعالية المضادة للتأكسد للبسكويت المدعم بناءً على اختبار DPPH• و $ABTS•^{+}$وذلك طوال فترة تخزينه, وترافقت هذه الزيادة بزيادة نسبة عديد السكارايد الكبريتي المضاف مقارنة بالشاهد إذ بلغت نسبة التركيز الذي يضمن كنس الجذور الحرة 50% (IC50) في معاملة الشاهد 5.37 غ/غ فيما يتعلق باختبار DPPH• و 5.72 غ/غ لاختبار$ABTS•^{+}$, وتفوقت المعاملة التي استعمل معها 1.5 % عديد السكارايد الكبريتي المنقى على بقية المعاملات, حيث وصلت قيمة IC50 إلى 0.16 غ/ غ لاختبار DPPH• و 0.01 غ/ غ لاختبار$ABTS•^{+}$ ما جعل البسكويت المُصنع ان يصبح من الأغذية الوظيفية.

الكلمات الدالة: طحلب الكلادوفورا، عديد السكاريد الكبريتي، الخواص الكيميائية، الخصائص الريولوجية، البسكويت، الخواص المضادة للتأكسد.

المقدمـة

يعد القمح من أهم المحاصيل الزراعية في جميع أنحاء العالم نظراً إلى استخراج الدقيق منه ولاحقاً الدخول في صناعة المخبوزات, حيث يكون بعض أصناف القمح الطري مناسباً لصناعة البسكويت مثل *Triticum aestivum* ويكون النوع القاسي *Triticum durum* مناسباً لصناعة المعكرونة). (Liu *et al.,*1996; Mamat and Hill,2018) ، أما البروتين الأساسي الموجود في دقيق القمح فهو الغلوتين, والذي يتكون من جزأين الغلياذين و بلمر الغلوتينين، و الغلوتين هو العنصر الرئيس في صناعة المخبوزات, ومسؤول عن خاصية المطاطية (Ooms and Delcour,2019)، لذا فان أي إضافة أو استبدال لدقيق القمح سوف تؤثر على خواص العجين (*et* Delcour *al*., 2012)، و العامل الحاسم في مدى ملائمة أنواع القمح لصناعات المخبوزات المختلفة هو طبيعة الشبكة الغلوتينية (Kaushik, *et al.,* 2019), ففي صناعة الخبز يجب أن تقوم الشبكة الغلوتينية باحتجاز الغاز لكي يكون حجم رغيف الخبز مناسباً, ويتحقق ذلك عندما يتمتع بروتين الدقيق بالقوة والمطاطية في حين أن المرونة تكون مطلوبة للدقيق الداخل في صناعة البسكويت (Kumar *et al,* 2013).أنجزت العديد من الأبحاث التي من شأنها التعديل في الخواص الريولوجية للغلوتين مثل عوامل الأكسدة وعوامل الإرجاع (Liu *et al.,* 1996; Sandhu *et al.*, 2011), إذ تكسر عوامل الإرجاع الروابط ثنائية الكبريت بين جزيئات البروتين وضمن الجزيئة الواحدة، أي ينخفض الوزن الجزيئي للبروتين وتزداد مرونته (Abedi and) Pourmohammadi,2020, وضمن هذا السياق عملت إضافة عديد السكاريد الكبريتي (الكارجينان) إلى دقيق القمح إلى إنخفاض في قيم المطاطية للعجين (Leon *et al*.,2000).

توصف المخبوزات بأنها واسعة الانتشار بين الشعوب (*et* Caleja *al*., 2017) مثل البسكويت، فهو من الوجبات الخفيفة بسبب وفرة المواد الأولية الداخلة في تصنيعه وسهولة تصنيعه، وانخفاض تكلفته وطعمه المرغوب، وانخفاض نسبة الماء فيه الأمر الذي يجعله يخزن لفترات طويلة (Chauhan *et al*.,2015؛ Misra *et al*., 2014; وعلى العموم فان له نوعان قاسي وطري اعتمادا على المواد الداخلة في تصنيعه (Mamat and Hill,2018).

تعتمد خواص البسكويت على نوعية وكمية المكونات المستعملة لاسيما الدقيق، إلى جانب ظروف التصنيع مثل مدة العجن وفترة الراحة والخبز، إذ تؤثر الخواص الريولوجية لعجينة البسكويت في جودته (Manohar and Rao,1997), وتُضاف عوامل تعديل الغلوتين لتحسين الخصائص الريولوجية لعجين البسكويت، مثل الصوديوم ميتا بيسلفيت (SMS) الذي يشق الروابط ثانية الكبريتيد بين جزيئات الغلوتين وداخل الجزيء نفسه, ما يؤدي إلى انخفاض الوزن الجزيئي للبروتين وازدياد تمدد العجين (Abedi and Pourmohammadi,2020), والأغذية الوظيفية Functional foods هي أي غذاء أو مكونات غذائية تحمل الفائدة الصحية للجسم وتقلل من المخاطر (Plaza *et al*.,2009; Borowitzka *et al*.,2013). ولما كانت المركبات الكيميائية ذات المصدر الطحلبي مثل السكريات والزيوت ذات فائدة للصحة فهي تستأثر بأهمية كبيرة في أسواق الطعام والشراب في العالم (Sang Vo and Kim, 2013)، فعلى سبيل المثال استعمل الحمض الدهني أوميغا 3 المستخلص من الطحلب *Isochrysis galbana*في تدعيم البسكويت (Gouveia *et al*., 2008) كما تم أيضاً تدعيم البسكويت بعديد السكاريد المنتج من بكتريا *L*actobacillu *helveticus* (Hussein *et al*.,2010)، وتستعمل هذه السكريات تجاريًا في الصناعات الغذائية والدوائية باعتبارها بوليمرات حيوية. وتعتبر الطحالب مصدراً طبيعياً رخيص الثمن للسكريات، ذات شحنة سالبة بسبب الارتباط بين أيونات مجموعة الكبريتات والوحدات السكرية. (De Jesus Raposo *et al*.,2014)،

حيث استعملت كعامل لزوجة، مثخن قوام، تكتل، تبلور، تهلم، وتغليف (Muthukumar *et al*.,2021).

تتميز عديدات السكارايد الكبريتية المستخلصة من الطحالب البنية (الفوكوئيدان) بفعالية مضادة للورم، مضادة للتخثر، مضادة للفيروسات, كما تم التحري عن فعاليتها المضادة للتأكسد (Choi *et al*., 2007)، أما الكاراجينان و سلفات الجلاكتان المستخلصة من الطحالب الحمراء استعملت كمادة حافظة، مضادة للتأكسد، مضادة للالتهاب، مضادة للتخثر، ومضادة للميكروبات: الفيروسات, البكتريا، الفطريات (Ismail and Amer, 2021), وتمت الإشارة إلى استعمال عديد السكارايد الكبريتي المستخلص من الطحلب الأخضر *Cladophora glomerata* في مجال التطبيقات الطبية, الصيدلانية, الغذائية ومستحضرات التجميل, كما أمكن تحويلها إلى الإيثانول (Munir *et al*.,2019)، و الكلادوفورا طحالب خضراء واسعة الانتشار في سورية, تتميز بمحتواها الكمي العالي من البروتين, الدهون و الكربوهيدرات, والنوعي من الأحماض الأمينية, الأحماض الدهنية و السكريات البسيطة (Jasem *et al*., 2021).

وأمكن استخلاص عديد السكارايد منه باستعمال مذيبات مختلفة، ووصفت بأنها ذات فعالية مضادة للتأكسد (Jasem *et al*., 2022). الأولفان هو عديد سكارايد كبريتي والذي يتم استخراجه من الطحالب الخضراء، يتكون من وحدات سكرية، أحماض يورانية و مجموعة السلفات، وللأولفان خواصه المضادة للميكروبات، والمضادة للتأكسد، كما أنه يقوم بتخفيض نسبة الكولسترول (Cindana Mo'o *et al*., 2020)، ولقد أخبر عن إضافة الارابينوزايلن (arabinoxylan) ومتعدد السكرايد (oligosaccharides) لزيادة القيمة الغذائية في البسكويت (Giarnetti.,*et al* .,2015; Sozer *et al*.,2014). والمواد السكرية هي مواد محلية لكنها تستعمل كعامل منكّه وملون، كما أن السكر يقوم بربط الماء وبالتالي يمنع نمو المكروبات ويطيل بذلك فترة حفظ البسكويت (Sahin *et al*., 2019).

في صناعة المخبوزات يتم استعمال السمن والزيت على نطاق واسع, هذا ويعرض الزيت خطورة عالية وذلك لإمكانية أكسدة الأحماض الدسمة الغير مشبعة إلى هيدروبيروكسيد ولاحقاً تشكل الالدهيدات والكيتونات (Abd El Baky *et al*., 2015)، مما يستوجب تدعم المخبوزات ببعض الإضافات التي تمكنها من زيادة قيمتها الغذائية وإطالة مدة حفظها، وعليه فإن إضافة المركبات الطحلبية يلفت الانتباه، وهكذا يهدف هذا البحث إلى استخلاص عديد السكاريد الكبريتي، تنقيته وتحديد مكوناته كماً ونوعاً، إضافة إلى تحديد تأثيره في الخواص الريولوجية للعجين، وتصنيع البسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي، وتقيمه من الناحية الحسية، وتحديد كفاءته كمادة مضافة إلى البسكويت بصفته المضادة للتأكسد.

المواد والطرائق Materials and Methods

المواد الكيميائية

تم تأمين المواد الكيميائية من المصادر التالية: ميثانول (99.9%), أستون(99.9%)، كلوروفورم(99%)، ن-بوتانول(99.5%)،الكزايلوز(98%)،الرامنوز(98%),الأرابينوز(98%)، الجلاكتوز(97%) من شركة Merck الألمانية؛ هلام الترشيح سيفادكس ج – 100,كاشف فولين سيوكالتو، ألبومين المصل البقري، بروميد البوتاسيوم، مركبDPPH, مركبABTS من شركة Sigma اليابانية؛ فسفات الصوديوم أحادي الهيدروجين، فسفات البوتاسيوم ثنائي الهيدروجين من شركة KSFE الماليزية؛ حمض الكبريت من شركة Panreac الإسبانية؛ حمض البوريك وبودرة الجيلاتين من شركة Scharlau الألمانية؛ الفينول من شركة Suttolk إنكلترا؛ كلوريد الباريوم ووسط تنمية الطحالب من شركة Fluka سويسرا؛ سلفات البوتاسيوم من شركة Qualikemsالهندية؛ كلوريد الصوديوم تحليلي من شركة Surechem إنكلترا؛ الترولكس 99% من شركة Cayman chemical هولندا؛ كربونات الصوديوم الهيدروجينية Asia chemical الصينية؛ حمض الأسكوربيك وأمونيوم بيرسلفات من شركة Dolar kimya الأمريكية.

جمع العينات، التصنيف، العزل والإكثار

جمعت عينات الطحلب من مياه نهر الأعوج (ينبع من جبل الشيخ في بلدة عرنة, طوله 70 كم ويروي مساحة قدرها 745 هكتار)، في بلدة جديدة عرطوز ربيع 2021، على عمق 20

سم, حيث كانت الطحالب ملتصقة طرفياً بالصخور وحرة من الطرف الأخر, ونقلت إلى مختبر الأحياء الدقيقة والطحالب في قسم علم الحياة النباتية بجامعة دمشق، غسلت بالماء المقطر عدة مرات بهدف إزالة الأتربة والمواد العالقة, وتم تحديد الطحلب مورفولوجياً باستعمال المجهر الضوئي (Prescott, 1970), جرى الحصول على عزلات نقية للطحلب حسب نظام الدفعة الواحدة, وذلك بزرع الخيوط الطحلبية ضمن وسط تنمية Algae Culture Broth مدة 14 يوماً في غرفة الزرع والتنمية في ظروف المختبر الآتية: وضع 10غ من الطحلب في دورق وإضافة 100 مل وسط التنمية إليها، مع مراعاة ضخ هواء مستمر 16 ساعة إضاءة : 8 ساعات ظلام، وشدة الإضاءة 1800 لوكس، كما ضُبطت درجة الحموضة pH = 8، وبدرجة حرارة 23 م°(John, 2005). جرى الحصاد في مرحلة النمو المستقر (طور الثبات)، وكان إكثاره ضمن الأحواض المفتوحة مع إمكانية التحكم في نسب N/P لغرض إنتاج الكتلة الخلوية (Ramaraj and Dussadee, 2015).

استخلاص عديد السكارايد الكبريتي وتنقيته وتوصيفه

الاستخلاص

استخلص عديد السكارايد من الطحلب *Cladophora fracta* بتقنية الأمواج فوق الصوتية في مختبر الكيمياء الفيزيائية في قسم الكيمياء –كلية العلوم- بجامعة دمشق (Champa *et al*., 2016)، بالاشتراك مع طريقة الاستخلاص المتعاقب (Song *et al*.,2018)، بهدف الحصول على مردود عالي النقاوة؛ بإذابة مسحوق الطحلب الجاف بالأستون 70%؛ 30:1 غ/مل وتوضع ضمن حمام الأمواج فوق الصوتية (Ultrasonic Cleaner model:ps-60ar, jeken, 360 w,40khz-China)، وجرى الاستخلاص في درجة حرارة 40 م°، وزمن 120 دقيقة، وبعد إنجاز معاملة الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية أجري الاستخلاص المتعاقب بتطبيق عملية التثفيل 5000 د/د مدة 10 د، بعد ذلك جمع الجزء الطافي وأُجري ترسيب لعديد السكارايد على هيئة كُريات Pellets بإضافة ثلاث أحجام من الإيثانول المطلق، وإعادة إذابة الكرات بالماء المقطر ونزع محتواها من الدهون بإضافة مزيج من الأسيتون: والكلوروفورم (1: 3 حجم/حجم)، أما المحتوى البروتيني فكان التخلص منه عن طريق إضافة عامل سيفاج المكون من كلوروفورم : ن - بوتانول (4:1 حجم/ حجم)، أُخضع المزيج بعد ذلك لعملية تثفيل 4000 د/د مدة 15 دقيقة, حيث جرى التخلص من الجزء البروتيني ذي اللون الكريمي، أما الجزء الرائق فأخذ إلى حقيبة الديلزة مدة 48 ساعة, ورُسّب عديد السكارايد بإضافة 3 أحجام من الإيثانول النقي، تلاها جمع عديد السكارايد والتجفيف بالمبخر الدوار(60 م°, 110 د/د) حتى 10 % محتوى مائي.

تنقية عديد السكارايد الكبريتي

أُجريت تنقية عديد السكارايد الكبريتي وفقاً لطريقة بيير وزملائه (Pier *et al*., 1978)، مع بعض التعديلات وذلك بإذابة 0.5غ من عديد السكارايد الكبريتي في 100 مل من الطور المتحرك (المحلول الفُسفاتي الموقيئ)، والمكون من 6.8 غ كلوريد الصوديوم و1.48 غ فسفات الصوديوم أحادي الهدروجين و0.43 غ فوسفات البوتاسيوم ثنائي الهدروجين في لتر واحد من الماء المقطر مع مراعاة ضبط pH على القيمة 7. بعد أن تم مزج عديد السكارايد مع المحلول الموقي أخذ من المزيج 3 مل وحمل على عمود الفصل الهلامي الكروماتوغرافي سيفادكس ج 100 (قطر العمود X 2.5 طوله 20 سم) بمعدل تدفق للطور المتحرك 1 مل/ دقيقة، حجم الجزء المفصول 700 ميكرولتر، حدد المحتوى من السكريات الكلية للأجزاء المفصولة بطريقة فينول حمض الكبريت، جمعت الأجزاء المفصولة المكونة للقمم، والتي أعطت أعلى امتصاصيه على 490 نانومتر وجففت حتى محتوى مائي 10%.

تحديد المجاميع الفعالة في الأجزاء المفصولة المكونة للقمم بالأشعة تحت الحمراء القريبة

استعملت الأشعة تحت الحمراء للكشف عن المجاميع الفعالة بمزج 2 مغ من كل قطفة جافة مع بروميد البوتاسيوم، وضغطت على هيئة أقراص بسماكة 1 مم وفحصت بالأشعة تحت الحمراء القريبة Fourier transforms infrared spectroscopy باستعمال جهاز FT-IR-4200 type A-C077661018 بهدف تحديد المجموعات الفعالة (Song *et al*., 2018).

تحديد المكونات الكيميائية والفعالية المضادة للتأكسد للأجزاء المفصولة المكونة للقمم

جرى تقدير المحتوى من السكريات الكلية الذوابة وفقاً لطريقة فينول حمض الكبريت (Dubois *et al*., 1956)، أما المحتوى البروتيني فقد قدر حسب طريقة لوري المعدلة (Slocombe *et al*., 2013)، في حين قدر المحتوى من مجموعة السلفدريل وفقاً لطريقة سوزا (Souza *et al*., 2012). كما تم تقدير الفعالية المضادة للتأكسد لعديد السكاريد الخام و المنقى على تركيز 10 % بناءً على اختبار •DPPH (1,2-diphenylpicrylhydrazyl)` وذلك حسب (Sun *et al*., 2014)؛ عند طول موجي 517 نانومتر.

•DPPH% = [(Absللكنترول –Abs للعينة) / Abs للكنترول] X 100.

وبناءً على اختبار $ABTS^{+\bullet}$ 2,2′-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonicacid) diammonium salt حسب (Nitha *et al*., 2010)، عند طول موجي 734 نانومتر.$ABTS^{+\bullet}$% = [(Abs للكنترول –Abs للعينة)/Abs للكنترول] 100 X.

تحديد السكريات البسيطة

من أجل تقدير الوحدات السكرية البسيطة المكونة لعديد السكارايد للأجزاء المفصولة منه الناتجة عن التنقية بهلام الترشيح لابد من إجراء حلمهة له باستعمال حمض الكبريت وفقاً للطريقة التي ذكرها كاي (Cui *et al*., 2018)، حُددت السكريات البسطة باستعمال الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداءHigh Performance Liquid Chromatography [HPLC – refractive index detectors(RID) model 2414, باستعمال طريقة Xu مع بعض التعديل وهي باختصار العمود NH_2(250 * 4.40 مم)، درجة حرارة العمود والكاشف 30 مْ ، الطور المتحرك الأستونتريل: الماء 15:85، معدل التدفق 1 مل/د، زمن نهاية التجربة 20 .د، حجم الحقنة 20 ميكرولتر، المحاليل العيارية للسكريات البسيطة تم الحصول عليها من شركة سيغما، وحضرت بتراكيز 0.5- 50 مغ/ مل، تم حقنها بالفلتر 0.45 ميكرون (Xu *et al* ,.2015).

التحري عن الخواص الريولوجية للعجين

استعمل دقيق القمح القاسي ذو نسبة الاستخراج 72%، و تم التحري عن الخواص الريولوجية للعجين باستعمال جهاز الفارينوغراف (OHG, Duisburg, Germany Brabender) اعتماداً على الطريقة المعتمدة من قبل AACC رقم 54-21 لعام (2000)، وذلك بخلط عديد السكاريد الكبريتي المنقى (F1 و F2) بنسب مختلفة (مع مراعاة عمل شاهد) مع 150 غ دقيق قمح, وتمت إضافة الماء لكل عينة حتى الوصول إلى خط 500 برابندر، وضبط حرارة الخلط على 30 مْ. كما تم تحديد تأثير اضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى على المرونة والمطاطية للعجين باستعمال جهاز الإكستنسوغراف بعد أزمنة تخمر90,45 ,135 دقيقة وعلى درجة حرارة 30 مْ، مع مراعاة عمل مكرران لزمن التخمر 135 دقيقة، وذلك اعتمادا على الطريقة المعتمدة من قبل AACC رقم 54-10 لعام 2000، وذلك في مخبر بحوث سبية التابع للمؤسسة العامة للحبوب – سورية.

تحضير البسكويت

أُجري تحضير البسكويت باستعمال 46.5 % دقيق القمح، 23 % سكر، 20% زبدة,10% ماء، 0.5% كربونات الصوديوم الهيدروجينية (Baking powder) يضاف عديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2) بمعدل 0.5 % ، 1 %، 1.5 % إلى الدقيق(وزن/وزن)، مع مراعاة عمل شاهد بدون أي إضافة، درجة حرارة الخبز 125 مْ مدة 35 دقيقة، وأعطي التسمية SPs Biscuit عليه، تعبئ عينات البسكويت في أكياس بلاستيكية مختومة وتحفظ على درجة حرارة الغرفة وبعيداً عن أشعة الشمس (Abd El Baky *et al*., 2015).

التحري عن الفعالية المضادة للتأكسد للبسكويت

أخذ 0.2 غرام من كل عينة من عينات البسكويت ومزج بـمقدار 1.5 مل الماء ثنائي التقطير وذلك بمساعدة المحرك المغناطيسي وعلى درجة حرارة استخلاص 45 مْمدة 5 دقائق، بعد ذلك وضع المزيج على درجة حرارة 4 مْمدة نصف ساعة تلاها إجراء عملية تنبيذ على سرعة 4500 د/ د مدة 10 .د، تم ترشيح المزيج جمع الجزء الطافي في حين تم إعادة استخلاص

الراسب بنفس الظروف المذكورة سابقاً (Conforti and Patrignani, 2021)، في النهاية جمع الجزء الطافي الأول والثاني وأخضع لتقدير الفعالية المضادة للتأكسد خلال مدة خزن البسكويت مدة شهر.

المقدرة على كنس الجذور الحرة اعتمادا على اختبار $DPPH^{\bullet}$

تم تحضير العينة وذلك بأخذ 2 مل من مستخلص كل عينة بسكويت، وأضيفت إلى 2 مل من محلول $DPPH^{\bullet}$بتركيز قدره 0.1 ميلي مول (3.94 مع في 100 مل ميثانول)، حضن المزيج على درجة حرارة الغرفة مدة نصف ساعة في الظلام وجرى قياس الامتصاصية على طول موجي على 517 نانومتراً. وحضر محلول المقارنة (الكنترول) هو 1 مل محلول + 1مل ميثانول بنفس الظروف السابقة والبلانك هو الميثانول، استعمل حمض الأسكوربيك بتراكيز مختلفة كمحلول للمقارنة الإيجابي. تم تحديد التركيز الذي يضمن تثبيط 50 % من الجذور الحرة (Sun *et al*., 2014).

المقدرة على كنس الجذور الحرة اعتماداً على اختبار $ABTS^{+\bullet}$

تم تحضير 7 ميلي مول من مركب $ABTS^{+\bullet}$ (0.0364 غ مذاب في 10 مل ماء ثنائي التقطير)، وأضيف إليه 5.59 أمونيوم بيرسلفات ليصبح تركيزه 2.45 ميلي مول، تم حضن هذا المزيج لمدة 16 ساعة على درجة حرارة الغرفة 26 مْ وفي الظلام، بعد ذلك ممد ذلك المحلول بمحلول الفسفاتي الموقي وحضن مدة 6 دقائق، بعدها جرى القياس عند طول الموجة 734 نانومتراً واستمر التمديد بحذر حتى الحصول على امتصاص ضوئي 0.70 عند طول الموجة 734 نانومتر. اضيف 10 ميكرولتر من كل مستخلص إلى 1 مل من محلول $ABTS^{+\bullet}$وحضن مدة 6 دقائق بعدها جرى القياس عند طول الموجة 734 نانومتر. وحضر محلول المقارنة (الكنترول) هو 1 مل محلول $ABTS^{+\bullet}$الممدد والبلانك هو المحلول الفسفاتي الموقي، استعمل الترولوكس بتراكيز مختلفة كمحلول للمقارنة الإيجابي. تم تحدي قيم الـ IC_{50} التركيز الذي يضمن تثبيط 50 % من الجذور الحرة (Nitha *et al*., 2010).

تعيين مؤشرات اللون (L,a,b) للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى:

باستعمال جهاز Hunter Lab حسب ماذكره Bilgicli (and Levent, 2014).

التقييم الحسي للبسكويت

جرى تقييم الخواص الحسية للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2) من قبل ثمانية أساتذة وباحثين في جامعة دمشق الذكور والإناث من ذوي الخبرة في مجال التقييم الحسي, وذلك وفقاً للطريقة الموصوفة من قبل (Larmond, 1991) مع بعض التعديلات, وذلك باستعمال بطريقة المقياس ذو التسع نقاط, تم إعطاء كل معاملة رمزاً محدداً, حيث شرب كل محكم كاس من الماء المقطر بين كل عينة وأخرى مع الأخذ بالعلم أن الاختبار جرى في نفس الزمن لجميع المحكمين وبنفس ظروف الإضاءة والتهوية, حيث تم تقييم الشكل العام, الطعم, اللون, الرائحة، القوام، درجة الهشاشة و الاستساغة. اعتبرت القيم من 1 حتى 5 مرفوضة في حين كانت القيم 6: مقبول، 7: جيد، 8: جيد جداً، 9: ممتاز.

التحليل الإحصائي

نفذت كل الاختبارات بواقع مكرران، وكان التعبير عن النتائج بالقيمة المتوسطة مع الانحراف المعياري، وأُجري التحليل الإحصائي باستعمال برنامج التحليل الإحصائي SPSS الإصدار 20، واستُعمل اختبار تحليل التباين لإيجاد الفروق المعنوية بين المعاملات المختلفة عند 1 %.

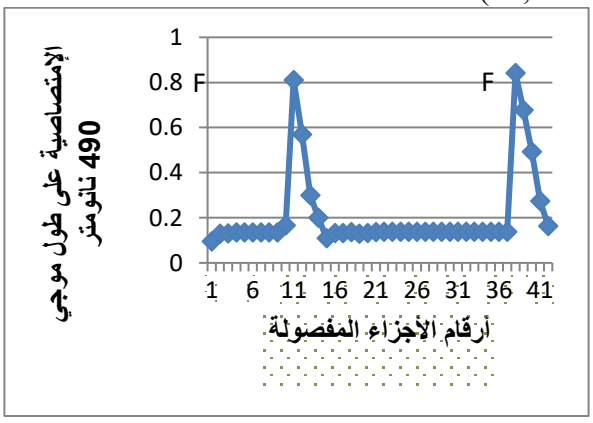
النتائج والمناقشة Results and Discussion

وصف الطحلب

ظهر الطحلب من النوع *Cladophora fracta* على هيئة خيوط عديدة الخلايا متفرعة بشكل قليل وغير منتظمة ومتعاقبة، تأخذ الخلايا الشكل الأسطواني المتطاول (الشكل 1)، الصانعات الخضراء ذات مظهر شبكي، يكون طول الخلية بحدود 425 ميكرمتراً، وتم تصنيفه وفقاً لدراسة بريسكوت (Prescott, 1970).

تنقية عديدات السكارايد الكبريتية وتحديد مكوناته، وخواصه المضادة للتأكسد

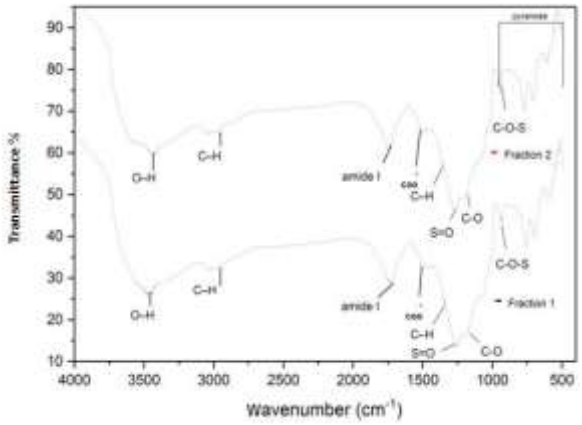
كان المردود من عملية الاستخلاص 12.2 %، بعدها أُجريت تنقية عديد السكاريد الكبريتي الخام المستخلص من طحلب *Cladophora fracta* بهلام الترشيح للحصول على مركب نقي ذي مواصفات قياسية، وتم تحديد القمم بناءً على المحتوى من السكريات الكلية، تألفت القمة الأولى F1من الأجزاء المفصولة من الرقم 11 إلى14، والقمة الثانية F2من الأجزاء المفصولة من الرقم 38 إلى 42 (الشكل 1)، ويتفق ذلك مع نتائج عدد من الأبحاث (Pier *et al*., 1978; Song *et al*., 2018).



الشكل 1: الأجزاء المفصولة الناتجة عن تنقية عديد السكارايد الكبريتي الخام المستخلص من طحلب *Cladophora fracta* باستعمال هلامة الترشيح Sephadex gel G-100.

تفسير طيف الأشعة تحت الحمراء

يوضح الشكل 2 طيف الأشعة تحت الحمراء لكل من القمتين الناتجة عن تنقية عديد السكاريد الكبريتي الخام، ويوضح الشكل 2 أن لكل من القمتين طيف الأشعة تحت الحمراء نفسه مع وجود فروق بسيطة فيما يخص الطول الموجي، إذ إن الاهتزاز المط لزمرة الهيدروكسيل O–H عند الطول الموجي 3410 – 3419 سم$^{-1}$ التي تشير إلى وجود الكربوهيدرات، كما وُجد الاهتزاز المط للألكيل عند الطول الموجي 2910-2925 سم$^{-1}$,في حين أن التردد المنحني كان عند الطول الموجي 1360 -1370 سم$^{-1}$، وإن وجود القمة عند الطول الموجي 1660 سم$^{-1}$ يشير إلى وجود الأمين الأولي والتي تدل على وجود البروتين, وإن الاهتزاز المط غير المتماثل للكربوكسيلات C=O لوحظ عند الطول الموجي 1613-1624 سم$^{-1}$، وتشير إلى وجود الأحماض اليورانية. وإن التردد المط عند الطول الموجي 1250-1256 سم$^{-1}$ يشير إلى وجود استر السلفات، ويشير التردد المط عند الطول الموجي 1071-1074 سم$^{-1}$إلى زمرة الإيثر الدالة على وجود الرابطة الغليكوزيدية، وإن التردد المنحني عند الطول الموجي 847 سم$^{-1}$ يشير إلى مجموعة السلفات (C-O-S)، كما أن وجود القمم عند الأطول الموجية 600-900 سم$^{-1}$ تشير إلى وجود وحدات البيرانوس pyranose (Boulet *et al*., 2007; Peasura *et al*., 2015; Song *et al*., 2018; He *et al*., 2021).



الشكل 2: طيف الأشعة تحت الحمراء القريبة للقطفتين 1 و2 لعديد السكارايد الكبريتي المستخلص من طحلب الماء العذب *Cladophora fracta*.

مكونات عديد السكارايد المنقى

يُلاحظ من الجدول 1 أن انخفاض المحتوى السكري الكلي ترافق مع انخفاض المحتوى البروتيني، ويُلاحظ وجود البروتين حتى بعد الترشيح بالهلام، فالبروتين يكون مرتبطاً مع جدُر الخلية بإستر السلفاهدريل الذي يكوّن شحنة قوية تجذب شحنة البروتين الإيجابية (Peasura *et al*., 2015)، تميزت القمة الثانية F2بمحتوى أعلى من الكربوهيدرات والسلفات مقارنة بالقمة الأولى F1، كما تعتبر هذه القمة هي الانقى بسبب

محتواها المنخفض من البروتين 1.38 %. كما نلاحظ من خلال الجدول 1 أن ارتفاع مقدرة عديد السكارايد الكبريتي الخام والمنقى على كنس الجذور الحرة بناءً على اختبار DPPH• ترافق مع ازدياد نسبة السلفات، وعلى النقيض من ذلك فكان ارتفاع مقدرة عديد السكارايد الكبريتي الخام والمنقى على كنس الجذور الحرة بناءً على اختبار $ABTS^{+\bullet}$ ترافق مع ازدياد نسبة الأحماض اليورانية وذلك يتفق مع دراسة سابقة (Jasem *et al*., 2021).

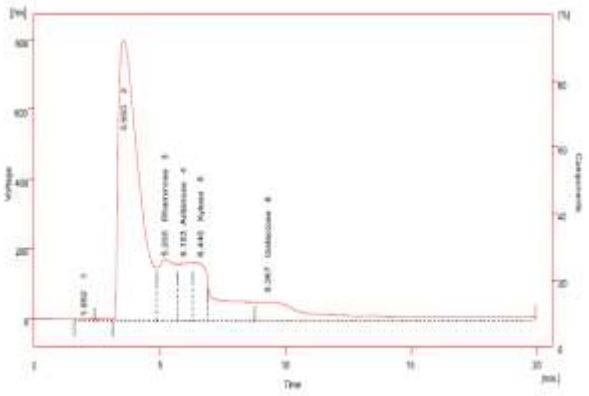
الجدول 1: التركيب الكيميائي والخواص المضادة للتأكسد لعديد السكارايد الكبريتي الخام والمنقى (F1 و F2)على أساس 10% رطوبة.

المكونات	السكريات الكلية (%)	البروتين (%)	السلفات (%)	أحماض يورانية (%)	DPPH (%)	ABTS (%)
السكر الخام	±0.00316.17 A	±0.0023.8 B	±0.00359.7 C	7.44±0.001 C	34±0.09 B	7±0.01 C
القمة الأولى F1	±0.00360.06 C	2.41±0.002 B	±0.00155.8 B	18.9±0.001 A	35±0.05 A	18±0.00 A
القمة الثانية F2	68.2±001 B	±0.002381. C	9.5±0.001 A	10.9±0.001 B	35.3±0.09 A	12±0.01 B

إن وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود يشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند $p < 0.01$.

السكريات البسيطة المكونة لعديد السكارايد:

كانت السكريات البسيطة المكونة لعديد السكارايد المنقى F1و F2(بناءً على الفصل باستعمال كروماتوغرافيا السائلة عالية الاداء) هي: الجلاكتوز11.8 %، الرامنوز 10.9 %، الكزايلوز10.3 % والارابينوز12.9 %(الشكل 3). إن عديد السكارايد المستخلص من الطحالب الخضراء يدعى بالأولفان وهو سكر كبريتي متعدد غير متجانس، والذي يتكون من ارتباط كلا من سكر الرامنوز والكزايلوز مع الأحماض اليورانية (الجلو ورونيك أو الإيايدورونيك) لتكون أربعة أنواع للأولفان بناءً على موقع الارتباط؛ ويستعمل الرنين المغناطيسي النووي لغرض تحديد مواقع الارتباط تلك (Arata *et al*., 2017)، إضافة إلى ذلك توجد كميات بسيطة من سكر الجلوكوز، الجلاكتوز والمانوز والتي تختلف في تواجدها ضمن عديد السكارايد هذا باختلاف بيئة نمو الطحلب. يعتبر هذا التركيب شائعاً في طحالب المياه المالحة والعذبة Kidgell *et al*., (2019).



الشكل 3: التحليل الكروماتوغرافي بتقنية الـ HPLC لعديد السكارايد الكبريتي المنقى

الجدول 2: مؤشرات الفارينوغراف للعجين المدعم بنسب مختلفة من عديد السكارايد الكبريتي(SPs) المنقى

المصدر	نسبة إضافة SPs (%)	امتصاص (%)	تكون (دقيقة)	ثبات (دقيقة)	ضعف (برابندر)	الرقم الفالوريمتري (%)
شاهد	0	61.5±0.2^{cd}	3.9±0.36^{a}	3.6±0.36^{a}	80±2.5^{f}	52±1^{f}
القمة الاولى F1	0.5	61.9±0.1^{cd}	3.7±0.40a^{b}	3.3±0.15^{ab}	91.7±2.88^{e}	53.4±0.57^{e}
	1	62.4±0.17^{c}	3.1±0.08a^{b}	3.0±0.00^{ab}	122.5±5^{b}	59±2^{c}
	1.5	64.8±0.2^{a}	2.2±0.08^{b}	2.1±0.08^{b}	130±0.00^{a}	62±2^{a}
القمة الثانية F2	0.5	61.6±0.0^{cd}	3.6±0.36^{a}	3.15±0.15^{ab}	91.7±2.88^{e}	52.3±0.57^{f}
	1	61.2±0.26^{d}	3.1±0.08^{ab}	2.7±0.31^{ab}	110±0.00^{d}	56±1^{d}
	1.5	63.6±0.1^{b}	2.25±0.22^{b}	2.3±0.00^{b}	120±2.5^{c}	60±1^{b}

إن وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس العمود شير إلى عدم وجود فروق معنوية عند. $p<0.01$

لوحظ من خلال الجدول 2 أن إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى (F1 و F2) ادى إلى زيادة في بعض مؤشرات الفارينوغراف مثل امتصاص الماء، ودرجة ضعف العجين والرقم الفالوريمتري، وتفوقت في ذلك معاملات القمة الثانية F2على معاملات القمة الأولى F1؛ 63.6% ، 120 برابندر، 60% على الترتيب، وفي كلا القمتين ترافقت هذه الزيادة بزيادة نسبة إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى. وأدت إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى إلى انخفاض في مؤشرات زمن تطور العجين وزمن ثباته مقارنةً مع دقيق القمح بدون إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى(شاهد) ذو زمن تطور وثبات أعلى 3.9 و3.6 دقيقة على التوالي، وليس هنالك فروق ذات دلالة إحصائية بين معاملات القمتين. مما تقدم نجد أن امتصاص الماء زاد بزيادة نسبة إضافة عديد السكارايد؛ حيث أن زيادة نسبة إضافة عديد السكارايد تزيد من عدد الوحدات السكرية المضافة وبالتالي زيادة عدد زمر الهيدروكسيل وذلك يتفق مع (Xhabiri *et al*., 2014) ومن جهة أخرى فإن عديد السكارايد يشوبه البروتين المرتبط، وبالتالي وجود عديد السكارايد المشوب بالبروتين بالإضافة إلى جلوتين القمح تطلب كمية ماء إضافية حتى يصل العجين غلى خط 500 برابندر (Graça *et al*., 2018). كما أخبر جوي وزملائه أن عوامل الإرجاع تعمل على تخفيض زمن تطور العجين وثباته (Skendi *et al*., 2021).

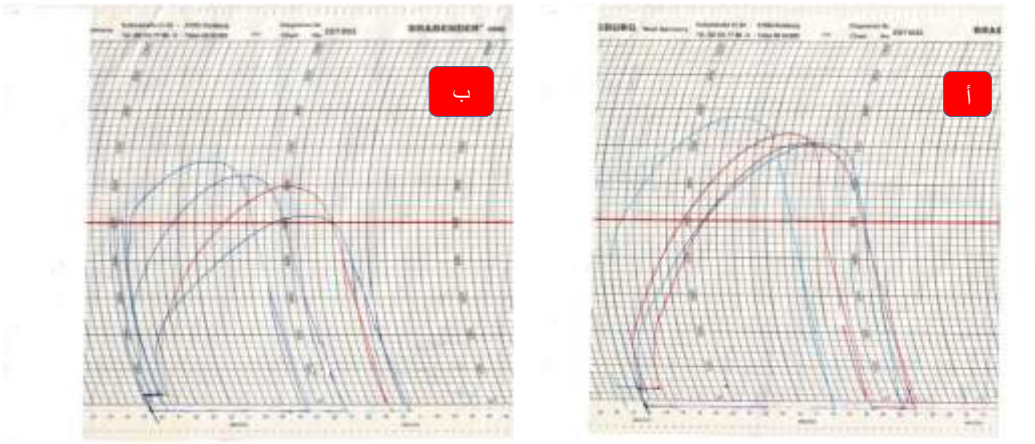
وبناءً على مؤشرات الفارينوغراف – زمن التطور وزمن الثبات؛ نلاحظ أن إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى (F1و F2) بنسبة 1.5 % جعل دقيق القمح يقع ضمن التصنيف متوسط القوة (Williams, 1997). إن إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى أدت إلى تغير في تركيب العجين أثناء عملية الخلط وبالتالي تغير طبيعة توزع الماء ضمن العجين مما أدى إلى زيادة امتصاص الماء، انخفاض زمن تطور وثبات العجين وارتفاع درجة ضعفه مما يؤدي إلى إضعافه وجاءت هذه النتائج مشابهة لما وجده Guo(2021) وزملائه عند إضافة الجلوتاثيونين.

الجدول 3: مؤشرات الإكستنسوغراف للعجين المدعم بنسب مختلفة من عديد السكارايد الكبريتي (SPs) المنقى

المصدر	نسبة إضافة SPs	مقاومة شد (برابندر)	المقاومة العظمى للشد (برابندر)	مرونة (مم)	مطاطية	القوة (سم2)
الشاهد	0	231.66±1.44^{b}	350.66±3.81^{a}	150±1^{c}	2.31±0.010^{a}	105±3^{a}
القمة الاولى F1	0.5	230.83±2.88^{b}	240±5.0^{b}	131.33±0.57^{g}	1.82±0.031^{a}	96±2.3^{b}
	1	215±2.5^{d}	231.66±2.88^{c}	142.33±1.50^{e}	1.62±0.006^{a}	81±2.27^{d}
	1.5	182.5±5^{e}	190±7.5^{e}	158 ±2^{b}	1.20±0.032^{b}	50.6±2.25^{f}
القمة الثانية F2	0.5	232.5±0.00^{a}	240±2.5^{b}	136.33±0.57^{f}	1.67±0.012^{a}	91±2^{c}
	1	216.66±1.44^{c}	230.00±5^{d}	145±0.00^{d}	1.58±0.034^{a}	77±2^{e}
	1.5	174.66±2.88^{f}	190.00±2.5^{f}	160±1^{a}	1.18±0.008^{b}	43.5±1.5^{g}

إن وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس العمود شير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

نلاحظ من الجدول3 وجود تأثير واضح لإضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى (F1 و F2)على مؤشرات الإكستنسوغراف، حيث ترافق ازدياد المرونة بازدياد تركيز عديد السكارايد الكبريتي المنقى المضاف مما يشير إلى ازدياد ضعف العجين، حيث وجد أعلى قيمة للمرونة 160 وحدة برابندر عند نسبة الاضافة 1.5 % للقمة الثانية (F2)، كما أدت إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى إلى انخفاض في بقية مؤشرات الإكستنسوغراف في كلا القمتين وزادت هذه الانخفاضات بزيادة تركيز عديد السكارايد المنقى، وكان الانخفاض الأكبر في معاملات القمة الثانية F2 وتم تأكيد ذلك إحصائياً؛ فكانت لمقاومة الشد174.66 برابندر، المقاومة العظمى للشد190 برابندر، المطاطية 1.18, القوة43.5 سم^{2}. كما نلاحظ من الجدول 3 أن أعلى قيمة للمقاومة العظمى للشد 350.66 برابندر كانت في عينات الشاهد، حيث أنه يعتبر من الدقيق متوسط القوة في حين أدت عملية الإضافة إلى تراجع تصنيف الدقيق إلى مرتبة الدقيق الضعيف وذلك حسب ويلميز (Williams,1997)، وتعرف القدرة بأنها المساحة تحت المنحنى وتعطي فكرة عن قوة العجين الشكل، حيث تعتبر المساحة من 80 وحتى 120 سم^{2} دقيق متوسط القوة أما المساحة أقل من 80 سم^{2} تعبر عن العجين الضعيف Parate *et al*.,2016)). تقترح النتائج المتحصل عليها أن إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى أدت إلى انخفاض في قيم المطاطية وزيادة لزوج العجين مقارنة بالشاهد كما هم موضح في الشكل 4، حيث أن إضافة عديد السكارايد الكبريتي أدت إلى ضعف شبكة الغلوتين وبالتالي ضعف العجين وذلك يتفق مع دراسة سابقة، ويمكن تعليل ذلك إلى التفاعلات الغلوتين واستر السلفات في عديد السكارايد الكبريتي والتي أدت إلى تعديل الرابطة من النمط S-S في الغلوتينين إلى النمط SH-SS (Ooms and Delcour,2019).



الشكل 4: تأثير إضافة عديد السكاريد الكبريتي المنقى على مؤشرات الإكستنسوغراف: أ: دقيق بدون إضافة، ب: دقيق مضاف إليه عديد السكاريد الكبريتي

التغيرات اللونية للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي

أدى تدعيم البسكويت بعديد السكارايد الكبريتي إلى خفض قيمة Lورفع قيمة (a و b)، أي إن ارتفاع نسبة عديد السكاريد الكبريتي المضافة أدى إلى جعل البسكويت أكثر قتامة مقارنة بعينة الشاهد (على الرغم من عدم وجود فروق معنوية بين معاملة الشاهد والمعاملة التي استعمل معها عديد السكارايد الكبريتي مضاف 0.5 %) ، ويعُود ذلك إلى حصول تفاعل ميلارد خلال عملية خبز البسكويت ويتفق ذلك مع نتائج الباحث حسين وزملاؤه (Hussein *et al.*,2010).

الجدول 4: التغيرات اللونية للبسكويت المدعم بعديد السكاريد الكبريتي.

المكونات	*L	*a	*b
الشاهد	79.2±0.25 A	0.46±0.005 C	18. 3±0.13 C
%0.5	78.8±0.20 A	0.46±0.01 C	18.12±0.18 C
%1	76.4±0.12 B	0.52±0.55 B	19.3±0.21 BC
%1.5	74.6±0.10 C	0.56±0.70 A	20.9±0.26 A

إن وجود أحرف كبيرة مختلفة ضمن العمود نفسه يشير إلى وجود فروق معنوية عند $p<0.01$

L*: درجة اللمعان (lightness/darkness),

a*: درجة اللون الأحمر (redness/greenness),

b*: درجة اللون الأصفر (yellowness/blueness)

نتائج التقييم الحسي:

يتضح من خلال الشكل 5 وجود فروق بسيطة بين العينات التجريبية من حيث اللون، وبشكل عام يمكن القول إن عينة البسكويت التي استعمل معها عديد السكارايد الكبريتي المنقى F2 بنسبة 1.5 % هي الأكثر اسمراراً. إلا أنها ضمن النطاق الطبيعي.

الشكل 5: البسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي بنسب مختلفة

الجدول 5: نتائج التقييم الحسي للشكل العام للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2)بنسب مختلفة.

المعاملة	ذكر		أنثى	
	متوسط	كبير	متوسط	كبير
شاهد	7±0.0^{a} B	^{a}4.1±7 B	^{a}76.5±0. AB	7±1.4^{a} C
% 0.5	±0.7^{a}8.5 A	7.5±0.7^{b} AB	7.5±0.7^{b} A	8±1.4^{ab} B
% 1	8±1.4^{a} A	8±0.0^{a} A	6±1.4^{b} B	8±0.0^{a} B
% 1.5	8±1.4^{b} A	^{b}77.5±0. A	6.5±0.7^{b} A	9±0.0^{a} A

وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس الصف تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند.$p<0.01$.

الجدول 6. نتائج التقييم الحسي للون للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2)بنسب مختلفة.

المعاملة	ذكر		أنثى	
	متوسط	كبير	متوسط	كبير
شاهد	7±0.0^{b} c	8±0.0^{a} A	7.5±0.7^{ab} B	7±1.4^{b} C
% 0.5	±1.4^{a}9 A	7±0.0^{b} B	8.5±0.7^{a} A	7.5±0.7^{b} BC
% 1	^{b}08±0. B	8.5±0.7^{a} A	8±0.0^{ab} A	8±0.0^{ab} B

% 1.5	$^{b}4.18\pm$ B	8 ± 0.0^{b} A	8 ± 1.4^{b} A	9 ± 1.4^{a} A

وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس الصف تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند.$p<0.01$.

الجدول 7: نتائج التقييم الحسي للطعم للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2)بنسب مختلفة.

المعاملة	**ذكر**		**أنثى**	
	متوسط	**كبير**	**متوسط**	**كبير**
شاهد	8 ± 1.4^{a} A	8 ± 0.0^{a} B	7 ± 0.0^{b} B	7 ± 0.0^{b} C
% 0.5	8.5 ± 0.7^{a} A	8 ± 1.4^{a} AB	8.5 ± 0.7^{a} A	8 ± 1.4^{a} B
% 1	7 ± 1.4^{c} B	8.5 ± 0.7^{ab} A	8 ± 0.0^{b} A	9 ± 1.4^{a} A
% 1.5	6.5 ± 0.7^{b} B	7.5 ± 0.7^{a} B	8 ± 1.4^{a} A	8 ± 0.0^{a} B

وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس الصف تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند.$p<0.01$.

الجدول 8: نتائج التقييم الحسي للرائحة للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2)بنسب مختلفة.

المعاملة	**ذكر**		**أنثى**	
	متوسط	**كبير**	**متوسط**	**كبير**
شاهد	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A
% 0.5	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A
% 1	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A
% 1.5	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A	8.5 ± 0.7^{a} A

وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس الصف تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند.$p<0.01$.

الجدول 9: نتائج التقييم الحسي للقوام للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2)بنسب مختلفة.

المعاملة	ذكر		أنثى	
	متوسط	كبير	متوسط	كبير
شاهد	7±1.4[a] B	[a]07±0. B	7±1.4[a] B	7±0.0[a] C
% 0.5	9±0.0[a] A	7.5±0.7[c] B	8±0.0[b] A	8±1.4[b] B
% 1	8.5±0.7[ab] A	9±0.0[a] A	8.5±0.7[ab] A	8±0.0[b] B
% 1.5	8.5±0.7[a] A	7.5±0.7[b] B	8.5±0.7[a] A	9±1.4[a] A

وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس الصف تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند.$p<0.01$

الجدول 10. نتائج التقييم الحسي للهشاشة للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2)بنسب مختلفة.

المعاملة	ذكر		أنثى	
	متوسط	كبير	متوسط	كبير
شاهد	7±0.7[a] B	7±0.0[a] C	7±1.4[a] B	7±1.4[a] B
% 0.5	9±0.0[a] A	8±0.0[b] B	8.5±0.7[a] A	8.5±0.7[a] A
% 1	8.5±0.7[ab] A	9±1.4[a] A	8±1.4[b] A	8.5±0.7[b] A
% 1.5	8.5±0.7[a] A	8.5±0.7[a] AB	8.5±0.7[a] A	9±1.4[a] A

وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس الصف تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند.$p<0.01$

الجدول 11: نتائج التقييم الحسي للقبول العام (الاستساغة) للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى (F2)بنسب مختلفة.

المعاملة	ذكر		أنثى	
	متوسط	كبير	متوسط	كبير
شاهد	7±1.4[a] B	[a]07±0. B	[a]07±0. C	7±1.4[a] B
% 0.5	8.5±0.7[a] A	7.5±0.7[b] B	9±0.0[a] A	9±0.0[a] A

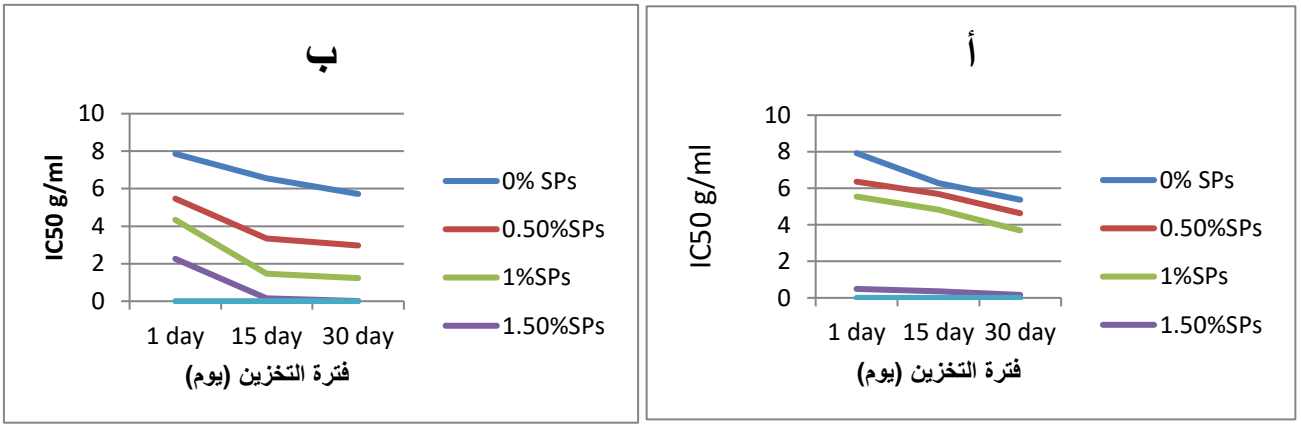
9±0.0[a] A	9±1.4[a] A	8.5±0.7[a] A	8.5±0.7[a] A	**% 1**
9±1.4[a] A	8±1.4[b] B	7.5±0.7[b] B	8±1.4[b] A	**% 1.5**

وجود أحرف صغيرة متشابهة في نفس الصف تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند$p<0.01$.

وجود أحرف كبيرة متشابهة في نفس العمود تشير إلى عدم وجود فروق معنوية عند.$p<0.01$

من خلال الجداول من 5 إلى 11 نلاحظ وجود تباين في أراء المحكمين من حيث تقييم بعض الخواص الحسية للبسكويت، حيث يعتبر الاختلاف في الآراء بالنسبة للون والطعم من الأمور المتوقعة وذلك يتفق مع سان جوزيه، حيث يفضل المحكمون الشباب المعاملة الأولى ذات نسبة الإضافة المنخفضة (0.5%) وتم تأكيد ذلك إحصائياً وذلك يتفق مع (San Jose *et al*., 2018)، في حين أن المحكمين الكبار يفضلون المعاملتين الثانية والثالثة ذات اللون الغامق نوعاً ما وذلك يتفق مع (Kaur *et al*., 2015)، مع وجود فروق دالة إحصائياً بين المعاملتين. كما نلاحظ من الجدول 9 و 10 ارتباط القوام مع الهشاشة لدى جميع المحكمين حيث أن المحكم الذي اختار معاملة ما على أنها الأحسن قواماً قام بتفضل نفس المعاملة عند تقييم الهشاشة وذلك يتفق مع (Al-Marazeeq and Angor,2017)، وبالنسبة للرائحة لم يلاحظ تباين بين المعاملات يتفق مع (Ksuz and Karakas,2016)، كما اتفق من جميع المحكمين أن المعاملة الثانية ذات نسبة الإضافة المنخفضة(1%)هي المعاملة الأفضل في نسبة القبول العام.

الفعالية المضادة للتأكسد للبسكويت



الشكل 6: الفعالية المضادة للتأكسد للبسكويت المدعم بعديد السكارايد الكبريتي المنقى: قيم التركيز الذي يؤمن كنس الجذور الحرة بنسبة 50 % (IC_{50}) : أ - اعتمادا على اختبار $DPPH^{\bullet}$, ب - اعتمادا على اختبار $ABTS^{+\bullet}$

نلاحظ من الشكل 6 وجود تباين بين المعاملات المختبرة في قيم التركيز الذي يؤمن كنس الجذور الحرة بنسبة 50 % (IC_{50}) في كلتا الاختبارين، حيث كان لمعاملة الشاهد أعلى قيم (IC_{50}) طول فترة الخزن، في حين تباينت قيم الـ (IC_{50}) ضمن المعاملات التجريبية 0.5 , 1, 1.5 % ، يوضح الجدول أن أقل قيمة الـ (IC_{50}) كانت في المعاملة التي استعمل معها 1.5 % عديد السكارايد الكبريتي المنقى F2 حيث بلغت 0.49 غ/غ اعتماداً على اختبار $DPPH^{\bullet}$ و 2.26 غ/غ اعتمادا على اختبار

$ABTS^{+\bullet}$، حيث زادت المقدرة على كنس الجذور الحرة بزيادة تركيز عديد السكارايد الكبريتي المنقى F2 وذلك يتفق مع (Bhuyar *et al.*,2021), مع ملاحظة أن الفعالية المضادة للتأكسد في الشاهد الموجب هي الأكثر في كلتا الطريقتين(IC_{50} لحمض الأسكوربيك 0.26 مغ/ غ، IC_{50} الترولوكس 0.92 مغ/ غ). تتصف مجموعة السلفاهدريل بدور المانح لذرة الهيدروجين، ما جعل عديد السكارايد الكبريتي المنقىF2 يكتسب خواصاً مضادة للتأكسد (Imjongjairaka *et al.*, 2016)، إضافة إلى أن الأحماض اليورانية ذات خواص مضادة للتأكسد (Chen *et al.*, 2004). تمنع مضادات التأكسد بشكل عام تشكل البيروكسيد الدهني خلال فترة الخزن وبالتالي تؤخر من حصول التزنخ (Hussein *et al.*, 2010) كما نلاحظ انخفاض قيم التركيز الذي يؤمن كنس الجذور الحرة بنسبة 50 % (IC_{50}) مع مرور فترة الخزن في جميع المعاملات في كلا الاختبارين، ويعزى ذلك إلى بطء نفاذ عديد السكارايد الكبريتي ضمن طبقات البسكويت ووصوله إلى المحتوى الدهني بشكل كامل.

الاستنتاجات Conclusions

تُعدّ عملية الحصول على عديد السكارايد الكبريتي من طحلب *Cladophora fracta* عملية سهلة للغاية، ويمكن الاعتماد على تقنية الأشعة تحت الحمراء القريبة لوحدها في الكشف عن المجاميع الفعالة في هذا البلمر. وإن زيادة المجاميع القطبية في عديد السكارايد الكبريتي المنقى أدت إلى زيادة نسبة امتصاص الماء في الدقيق, كما يلاحظ أن زمن التطور يعكس مطاطية العجين، فقد أمكن الحصول على أخفض مطاطية للعجين مع أقل زمن تطور، في حين أن زمن الثبات يعكس المقاومة العظمى للشد, ففي حالة الغلوتين القوي يطول زمن الثبات وتتحقق الصلابة الممتازة للعجين، حيث تبدي العجينة الضعيفة زمن تطور قصير ومقاومة عظمى للشد منخفضة، مع كل ذلك فقد أظهرت مؤشرات الإكستنسوغراف التغيرات الحاصلة على الدقيق بنحو أكثر مقارنة مع مؤشرات الفارينوغراف، إذ يمكن الاعتماد على قراءة قيمة المقاومة العظمى للشد فقط للحكم على نوع الدقيق، وعلى قراءة قيم القدرة فقط للحكم على قوة العجين. تقوم عوامل الإرجاع بالتأثير على الخواص الريولوجية للعجين وفي بنية الغلوتين أثناء عملية الخلط والتخمر والمعاملة الحرارية، وإن ألية عملها يكون على الشكل المعاكس لعوامل الأكسدة.

وكان الارتفاع الملحوظ في المرونة نتيجة التفاعل بين عديد السكارايد الكبريتي – غلوتين والذي جرى على النحو التالي: عند تحضير العجين يمتص الغلوتين الماء المضاف، كما أن الألفة للماء التي يتميز بها عديد السكارايد الكبريتي عملت على زيادة امتصاص الماء؛ ما أدى الى التنافس على امتصاص الماء بين الغلوتين وعديد السكارايد الكبريتي أثناء فترة تطور العجين وبالنتيجة فان ذلك سبب ضعف الشبكة الغلوتينية، كما يعود أيضاً إلى للتأثير المرجع لعديد السكارايد الكبريتي وذلك نتيجة لحصول تغير في الرابطة من ثنائي الكبريتيد الى رابطة سلفدريل في الغلوتينين يؤدي إلى إضعاف العجين عن طريق انخفاض مطاطيتها وزيادة في مرونته وذلك نتيجة لتقليل الارتباط بين جزيئات البروتين(حيث تقوم بتخفيض الوزن الجزيئي في الغلوتينين) و لزيادة مرونة الروابط بين جزئيات الغلوتين. إن إضافة عديد السكارايد الكبريتي المنقى F2 إلى البسكويت كانت عملية ناجحة ولاقت قبولاً عاماً من الناحية الحسية وتفوقت على عينة الشاهد، كما عملت هذه الإضافة على جعل هذا المنتج مؤهلاً لكي يصنف ضمن الأغذية الوظيفية وذلك لازدياد المقدرة على كنس الجذور الحرة في هذا المنتج مقارنة مع عينة الشاهد، وذلك نتيجة لكون هذا البلمر يتكون من وحدات سكرية، مجموعة السلفات وأحماض يورانية.

التمويل Funding information

إن هذا البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الأول، جامعة دمشق قامت بتمويل البحث وتوفير كافة التجهيزات المخبرية ومواد التحليل بالتعاون مع مختبر بحوث سبية التابع للمؤسسة العامة للحبوب – سورية. ويجب التنويه إلى أن هذا البحث لم يحصل على تمويل من المؤسسات التجارية والربحية.

تضارب المصالح Disclosure and conflict of interest

يصرح الباحثون بأنه لا يوجد أي تضارب في المصالح.

REFERENCES

AACC, American Association of Cereal Chemists. (2000). *Approved methods of the American Association of Cereal Chemists*. 10. ed. Saint Paul.

Abd El Baky, H. H., El Baroty, G. S., & Ibrahim, E. A.(2015). Functional characters evaluation of biscuits sublimated with pure phycocyanin isolated from Spirulina and Spirulina biomass. *Nutricion Hospitalaria: Organo Oficial de La Sociedad Espanola de Nutricion Parenteraly Enteral*, *32*(1): 231–241. https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.1.8804.

Abedi, E., & Pourmohammadi, K. (2020). The effect of redox agents on conformation and structure characterization of gluten protein: An extensive review. *Food Science Nutrition*, 8:6301–6319. https://doi.org/10.1002/fsn3.1937

Al-Marazeeq, K. M., & Angor, M. M.(2017). Chemical characteristic and sensory evaluation of biscuit enriched with wheat germ and the effect of storage time on the sensory properties for this product. *Food and Nutrition Sciences*, *08*(02): 189–195. https://doi.org/10.4236/fns.2017.82012

Arata, P. X., Alberghina, J., Confalonieri, V., Errea, M. I., Estevez, J. M., & Ciancia, M. (2017). Sulfated Polysaccharides in the Freshwater Green Macroalga Cladophora surera Not Linked to Salinity Adaptation. *Frontiers in Plant Science*, *8*. https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01927.

Bhuyar, P., Sundararaju, S., Rahim, M. H. A., Unpaprom, Y., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2021). Antioxidative study of polysaccharides extracted from red (Kappaphycus alvarezii), green (Kappaphycus striatus) and brown (Padina gymnospora) marine macroalgae/seaweed. *SN Applied Sciences*, *3*(4). https://doi.org/10.1007/s42452-021-04477-9

Bilgicli, N., and Levent, H. (2014). Utilization of Lupin (Lupinus Albus L.) Flour and Bran with Xylanase Enzyme in Cookie Production. *Legume Research*, 37 (3): 264-271. https://doi.org/10.5958/j.0976-0571.37.3.040.

Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae—their development and commercialisation. *Journal of Applied Phycology*. 25: 743 -756. https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-013-9983-9

Boulet, J.C.,Williams, P., & Doco T.A.(2007). Fourier transform infrared spectroscopy study of wine polysaccharides. *Carbohydrate Polymers Journal*, *69*: 79–85. doi: 10.1016/j.carbpol.2006.09.003.

Caleja, C., Barros, L., Antonio, A. L., Oliveira, M. B. P. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2017). A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits. *Food Chemistry*, *216*: 342–346. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.075.

Champa, P., Whangchai, N., Jaturonglumlert, S., Nakao, N., &Kanda Whangchai, K. (2016). Determination of phytochemical compound from spirogyra sp. using ultrasonic assisted extraction. *International Journal of GEOMATE*, *11:* 2391–2396. https://cumuir.cmu.ac./th/jspui/handl.e/66539.43832/42623.

Chauhan, A., Saxena, D. C., & Singh, S. (2015). Total dietary fibre and antioxidant activity of gluten free cookies made from raw and germinated amaranth (Amaranthus spp.) flour. *Lebensmittel-Wissenschaft Und*

Huddersfield. available at http://eprints.hud.ac.uk/id/eprint/23320/.

Delcour, J. A., Joye, I. J., Pareyt, B., Wilderjans, E., Brijs, K., & Lagrain, B. (2012). Wheat gluten functionality as a quality determinant in cereal-based food products. *Annual Review of Food Science and Technology*, *3*: 469–492. https://doi.org/10.1146/annur ev-food-022811-101303

De Jesus Raposo, M. F., de Morais, A. M. M. B., & de Morais, R. M. S. C. (2014). Influence of sulphate on the composition and antibacterial and antiviral properties of the exopolysaccharide from Porphyridium cruentum. *Life sciences*, *101*(1-2): 56-63. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0024320514002550.

DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, *28*(3): 350-356. https://doi.org/10.1021/ac60111a017.

Giarnetti, M., Paradiso, V. M., Caponio, F., Summo, C., & Pasqualone, A . (2015). Fat replacement in shortbread cookies using an emulsion filled gel based on inulin and extra virgin olive oil. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, *63*(1): 339–345. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.063.

Gouveia, L., Coutinho, C., Mendonça, E., Batista, A. P., Sousa, I., Bandarra, N. M., & Raymundo, A. (2008). Functional biscuits with PUFA-ω3 fromIsochrysis galbana. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *88*(5): 891–896. https://doi.org/10.1002/jsfa.3166.

Graça, C., Fradinho, P., Sousa, I., & Raymundo, A. (2018). Impact of Chlorella vulgaris on the rheology of wheat flour dough and bread texture. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, *63*(2): 939–945. doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.115

Chen, H., Zhang, M., & Xie, B. (2004). Quantification of uronic acids in tea polysaccharide conjugates and their antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(11): 3333–3336. https://doi.org/10.1021/jf0349679

Choi, D.-S., Athukorala, Y., Jeon, Y.-J., Senevirathne, M., Cho, K.-R., & Kim, S.-H. (2007). Antioxidant Activity of Sulfated Polysaccharides Isolated from Sargassum fulvellum. *Journal of Food Science and Nutrition*, 12: 65-73. doi:10.3746/jfn.2007.12.2.065.

Cindana Mo'o, F. R., Wilar, G., Devkota, H. P., & Wathoni, N. (2020). Ulvan, a polysaccharide from macroalga Ulva sp.: A review of chemistry, biological activities and potential for food and biomedical applications. *Applied* Sciences, *10*(16), 5488. https://www.mdpi.com/2076-3417/10/16/5488.

Conforti, P. A., & Patrignani, M. (2021). Increase in the antioxidant content in biscuits by infusions or Prosopis chilensis pod flour. *Open Agriculture*, *6*(1): 243–253. https://doi.org/10.1515/opag-2021-0016

Cui, F.-J., Qian, L.-S., Sun, W.-J., Zhang, J.-S., Yang, Y., Li, N., Zhuang, H.-N., & Wu, D. (2018). Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from Volvariella volvacea: Process optimization and structural characterization. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *23*(7), 1706. https://doi.org/10.3390/molecules23071706

Dahunsi, O. S. (2013). *Investigation of stress relaxation in hydrated gluten networks using spectral analysis.* Master's thesis, University of

her_app&utm_medium=referral&utm_campaign=RESR_MRKT_Researcher_inbound

Jasem, M.K., AL-MERAI, A.A., NIZAM, A.A.(2021). Studying the Possibility of Controlling the Nutrient Value and Biomass Production of Cladophora Crispata in Different Cultivating Medium (In Arabic). *Journal of Albaath University. Serial of Biological and Agriculture Science*, *43*(23): 115- 144. https://journal.albaathuniv.edu.sy/index.php/BUJBA/article/view/727.

Jasem, M.K., AL-MERAI, A.A., NIZAM, A.A & Alshaal, A. (2022). Characteristics and Antioxidant Potential of Sulfated Polysaccharides from Cladophora crispata. *Jordan Journal of Chemistry (JJC*), *17*(2): 91-101. https://doi.org/10.47014/17.2.4.

John A. *Long-Term Macroalgal Culture Maintenance In: Andersen R. (Ed.), Algae Culturing Techniques*. San Diego. USA: Elsevier Academic Press; 2005.p.590. ISBN: 0-12-088426-7.

Kaur, M., Sandhu, K. S., Arora, A., & Sharma, A. (2015). Gluten free biscuits prepared from buckwheat flour by incorporation of various gums: Physicochemical and sensory properties. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, *62*(1): 628–632. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.039.

Kaushik, R., Sharma, N., Swami, N., Sihag, M., Goyal, A., Chawla, P., Kumar, A., & Pawar, A. (2019). Physico-chemical properties, extraction and characterization of gluten from different Indian wheat cultivars. *Research & Reviews: Journal of Crop Science and Technology*, *2*(2): 37–42. https://doi.org/10.37591/rrjocst.v2i2.2198.

Technologie [Food Science and Technology], *89*: 466–474. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.11.024.

Guo, L., Fang, F., Zhang, Y., Xu, D., Jin, Z., & Xu, X. (2021). Glutathione affects rheology and water distribution of wheat dough by changing gluten conformation and protein depolymerisation. *International Journal of Food Science & Technology*, *56*(7): 3157–3165. https://doi.org/10.1111/ijfs.14806.

He, M., Yang, Y., Shao, Z., Zhang, J., Feng, C., Wang, L., & Mao, W. (2021). Chemical structure and anticoagulant property of a novel sulfated polysaccharide from the green alga Cladophora oligoclada. *Marine Drugs*, *19*(10), 554. https://doi.org/10.3390/md19100554.

Hussein, A. S., Ibrahim, G. S., Asker, M. M. S., & Mahmoud, M. G. (2010). Exopolysaccharide from Lactobacillus helveticus: identification of chemical structure and effect on biscuit duality. *Czech Journal of Food Sciences*, *28*(3): 225–232. https://doi.org/10.17221/97/2009-cjfs.

Imjongjairak, S., Ratanakhanokchai, K., Laohakunjit, N., Tachaapaikoon, C., Pason, P., & Waeonukul, R. (2016). Biochemical characteristics and antioxidant activity of crude and purified sulfated polysaccharides from *Gracilaria fisheri*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, *80*(3): 524–532. https://doi.org/10.1080/09168451.2015.1101334

Ismail, M. M., & Amer, M. S. J. A. B. B. (2021). Characterization and biological properties of sulfated polysaccharides of Corallina officinalis and Pterocladia capillacea. *Acta Botanica Brasilica*, 34: 623-632. avilble at: https://www.scielo.br/j/abb/a/VY8FFSJmpL8jVMvCKv5jWLR/?lang=en&utm_source=researc

Mamat, H. & Hill, S. E. (2018). Structural and functional properties of major ingredients of biscuit. *International Food Research Journal*, *25*(2): 462-471. https://www.researchgate.net/publication/325483823

Manohar, R. S., & Rao, P. H. (1997). Effect of mixing period and additives on the rheological characteristics of dough and quality of biscuits. *Journal of Cereal Science*, *25*(2): 197–206. https://doi.org/10.1006/jcrs.1996.0081.

Misra, N. N., Sullivan, C., Pankaj, S. K., Alvarez-Jubete, L., Cama, R., Jacoby, F., & Cullen, P. J. (2014). Enhancement of oil spreadability of biscuit surface by nonthermal barrier discharge plasma. *Innovative Food Science & Emerging Technologies: IFSET: The Official Scientific Journal of the European Federation of Food Science and Technology*, *26*: 456–461. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.10.001.

Munir, M., Qureshi, R., Bibi, M., & Khan, A. M. J. A. R. (2019). Pharmaceutical aptitude of Cladophora: A comprehensive review. 39, 101476. https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101476.

Muthukumar, J., Chidambaram, R., & Sukumaran, S. (2021). Sulfated polysaccharides and its commercial applications in food industries—A review. *Journal of Food Science and Technology*, 58(7): 2453-2466. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04837-0.

Nitha, B., De, S., Adhikari, S. K., Devasagayam, T. P. A., & Janardhanan, K. K. (2010). Evaluation of free radical scavenging activity of morel mushroom, Morchella esculenta mycelia: a potential source of therapeutically useful antioxidants. *Pharmaceutical Biology*, *48*(4): 453–460. https://doi.org/10.3109/13880200903170789.

Kidgell, J. T., Magnusson, M., de Nys, R., & Glasson, C. R. K. (2019). Ulvan: A systematic review of extraction, composition and function. *Algal Research*, *39*(101422), 101422. https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101422

Ksuz, T., & Karakas, B . (2016). Sensory and textural evaluation of gluten-free biscuits containing buckwheat flour. *Cogent Food & Agriculture*, *2*(1). https://doi.org/10.1080/23311932.2016.1178693

Kumar, N., Khatkar, B. S., & Kaushik, R. (2013). Effect of reducing agents on wheat gluten and quality characteristics of flour and cookies. *The Annals of the University "Dunărea de Jos" of Galaţi*, *37*(2): 68–81. https://doaj.org/article/14a562e2cb7541aeb3f2ed15eb01fbb4

Larmond, E. (1991). *Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food.* 2nd Edition, Canadian Department of Agriculture Publication, Ottawa. - references - scientific research publishing. Scirp.org. Retrieved October 1, 2022, from https://www.scirp.org/(S(351jmbntvnsjt1aadkposzje))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1970874.

Leon, A. E., Ribotta, P. D., Ausar, S. F., Fernandez, C., Landa, C. A., & Beltramo, D. M. (2000). Interactions of different carrageenan isoforms and flour components in bread making. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(7): 2634-2638. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf991340a.

Liu, C.-Y., Shepherd, K. W., & Rathjen', A. J. (1996). *Improvement of durum wheat pastamaking and breadmaking qualities*. Cerealsgrains.org. Retrieved October 1,2022, https://www.cerealsgrains.org/publications/cc/backissues/1996/Documents/73_155.pdf.

Sahin, A. W., Zannini, E., Coffey, A., & Arendt, E. K. (2019). Sugar reduction in bakery products: Current strategies and sourdough technology as a potential novel approach. *Food Research International*, 126, 108583. https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996919304612.

Sandhu, H. P. S., Manthey, F. A., Simsek, S., & Ohm, J.B. (2011). Comparison between potassium bromate and ozone as flour oxidants in breadmaking. *Cereal Chemistry*, *88*(1): 103–108. https://doi.org/10.1094/cchem-06-10-0085.

San Jose, F. J., Collado-Fernández, M., & López, R. (2018). Sensory evaluation of biscuits enriched with artichoke fiber-rich powders (Cynara scolymus L.). *Food Science & Nutrition*, *6*(1): 160–167. https://doi.org/10.1002/fsn3.541.

Skendi, A., Seni, I., Varzakas, T., Alexopoulos, A., & Papageorgiou, M. (2021). Preliminary Investigation into the Effect of Some Bakery Improvers in the Rheology of Bread Wheat Dough. *In Biology and Life Sciences Forum*, 6(10): 73-87. https://www.mdpi.com/2673-9976/6/1/73.

Slocombe, S. P., Ross, M., Thomas, N., McNeill, S., & Stanley, M. S. (2013). A rapid and general method for measurement of protein in microalgal biomass. *BioresourceTechnology*, *129*: 51–57. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.163

Song, H., He, M., Gu, C., Wei, D., Liang, Y., Yan, J., & Wang, C. (2018). Extraction optimization, purification, antioxidant activity, and preliminary structural characterization of crude polysaccharide from an arctic Chlorella sp. *Polymers*, *10*(3), 292. https://doi.org/10.3390/polym10030292.

Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Teixeira, J. A., Coimbra, M. A., & Vicente, A. A. (2012). Ooms, N., & Delcour,J.A.(2019). How to impact gluten protein network formation during wheat flour dough making. *Current Opinion in Food Science*, 25 : 88–97. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.04.001.

Parate, V. R., Pathak, S. S., & Talib, M. I. (2016). Improvement in functional and rheological properties of gluten by enzyme treatment. *IOSR Journal of Environmental Science, Toxicology and Food Technology (IOSR-JESTFT). 10*(11-2) PP 38-44. https://doi.org/10.9790/2402-1011023844.

Peasura, N., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., & Wanlapa, S. (2015). Characteristics and antioxidant of Ulva intestinalis sulphated polysaccharides extracted with different solvents. *International Journal of Biological Macromolecules*, *81*: 912–919. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.09.030.

Pier, G. B., Sidberry, H. F., Zolyomi, S., & Sadoff, J. C. (1978). Isolation and characterization of a high-molecular-weight polysaccharide from the slime of Pseudomonas aeruginosa. *Infection and Immunity*, *22*(3): 908–918. https://doi.org/10.1128/iai.22.3.908-918.1978.

Plaza, M., Herrero, M., Cifuentes, A., & Ibanez, E. (2009). Innovative natural functional ingredients from microalgae. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 2009, 57: 7159–7170. https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf901070g.

Prescott G.W. (1970). *Algae of the western great lake area*, 4th ed.1-700p. State University .Michigan. USA 47.

Ramaraj R., Dussadee N. (2015). Biological purification processes for biogas using algae cultures: A Review. *International Journal of Sustainable and Green Energy*; vol.4,1-1, p:20-32.

Williams, P. (1997). *Variety development and quality control of wheat in Canada: Characterization by functionality*. In Proceedings of the International Japanese conference on Near-Infrared Reflectance, Japan. http://www.grainscanada.gc.ca/Cdngrain/VarietyDev/variety1-e.htm.

Xhabiri, G., Sinani, V., & Hoxha, I. (2016). The impact of the wheat bran on the quality of the biscuits and their nutritional value. *ANGLISTICUM. Journal of the Association-Institute for English Language and American Studies*, *3*(3): 64–70. https://doi.org/10.0001/(aj).v3i3.633

Xu, W., Liang, L., & Zhu, M. (2015). Determination of sugars in molasses by HPLC following solid-phase extraction. *International Journal of Food Properties*, *18*(3): 547–557. https://doi.org/10.1080/10942912.2013.837064

Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed Gracilaria birdiae. *FoodHydrocolloids*, *27*(2): 287–292. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.10.005.

Sozer, N., Cicerelli, L., Heiniö, R.-L., & Poutanen, K. (2014). Effect of wheat bran addition on in vitro starch digestibility, physico-mechanical and sensory properties of biscuits. *JournalofCerealScience*, *60*(1): 105–113. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.01.022.

Sun, L., Wang, L., Li, J., & Liu, H. (2014). Characterization and antioxidant activities of degraded polysaccharides from two marine Chrysophyta. *Food Chemistry*, *160*: 1–7. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.067.

Sang Vo, T., & Kim, S.-K. (2013). Fucoidans as a natural bioactive ingredient for functional foods. *Journal of Functional Foods*, *5*(1): 16–27. https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.08.007.