

## تحديد الشروط المثلى لاستخلاص المركبات الفينولية من بعض أصناف القمح القاسي السوري باستخدام منهجية سطوح الاستجابة.

نورا جمل\*

(تاريخ الإيداع 4 / 3 / 2015. قبل للنشر في 9 / 6 / 2015)

### □ ملخص □

تمّ تحديد الشروط المثلى لاستخلاص المركبات الفينولية من بعض أصناف القمح السوري القاسي (حوراني، دوما 1، بحوث 11) باستخدام منهجية سطوح الاستجابة؛ إذ تمّ استخدام التصميم المركب المركزي للتحقق من تأثير ثلاثة متغيرات مستقلة هي تركيز المذيب، ودرجة حرارة الاستخلاص، وزمن الاستخلاص على عامل الاستجابة، وهو كمية المركبات الفينولية المستخلصة. اختيرت القيم الفعلية بناءً على نتائج التجارب الأولية، واختبرت المتغيرات المستقلة على ثلاثة مستويات. تمّ توقع نتائج الاستجابة من خلال استخدام نموذج متعدد حدود من الدرجة الثانية. أظهر تحليل الانحدار أن 95-97% من الانحرافات قد فسرت من خلال النموذج. كانت الشروط المثلى لاستخلاص المركبات الفينولية تركيز المذيب 49.5%، ودرجة الحرارة 55.5م، والزمن 42.5 د لأصناف القمح الثلاثة، وكانت القيم المتوقعة ضمن الشروط المثلى 0.976 مغ مكافئ حمض غاليك / غ وزن جاف للسنف الحوراني، و 0.947 مغ مكافئ حمض غاليك / غ وزن جاف للسنف دوما 1 و 1.316 مغ مكافئ حمض غاليك / غ وزن جاف للسنف بحوث 11. تمّ استخلاص المركبات الفينولية تحت الشروط المثالية المتوقعة للتحقق من صلاحية النموذج، وكانت النتائج 0.05±0.965 و 0.03±0.932 و 0.06 ± 1.214 مغ مكافئ حمض غاليك / غ عينة جافة من أصناف القمح حوراني، دوما 1، بحوث 11 على التوالي. لقد دل تطابق النتائج التجريبية مع القيم النظرية المتوقعة من خلال النموذج المستخدم على ملاءمة النموذج، ونجاح منهجية سطوح الاستجابة في تحديد الشروط المثلى للاستخلاص.

الكلمات المفتاحية : القمح ، سطوح الاستجابة ، استخلاص ، المركبات الفينولية.

\* قائم بالأعمال/ معاون - قسم علوم الأغذية - كلية الزراعة - جامعة تشرين - اللاذقية - سورية.

## Determining Optimum Conditions for Extraction of Phenolic Compounds From some Hard Syrian Wheat Varieties Using Response Surface Methodology

Noura Jamal\*

(Received 4 / 3 / 2015. Accepted 9 / 6 / 2015 )

### □ABSTRACT□

The optimal conditions for the extraction of polyphenolic compounds from hard Syrian wheat varieties (Hourani, Doma1,Bohoos11) were determined using response surface methodology. A Central Composite Design was used to investigate the effects of three independent variables, namely solvent concentration, extraction temperature and time on the response phenolic content. The independent variables were at three levels and their actual values selected on the basis of preliminary experimental results. A second-order polynomial model was used for predicting the response.

Regression analysis showed that more than 95-97% of the variation was explained by the models. The optimal conditions for phenolic compounds extraction were found to be acetone concentration of 49.5 %v/v, extraction temperature of 55.5°C, extraction time of 42.5min, for wheat. Under the optimum conditions the corresponding predicted response values for polyphenolic compounds were 0.976 mg EGA for Hourani, 0.947 mg EGA for Doma1 and 1.316 mg EGA for Bohoos11. The phenolics were extracted under optimum conditions to check the validity of model, and the experimental values were 0.969±0.05 ,0.932±0.03 and 1.214±0.06 mg galic acid equivalent /g dry weight from wheat varieties (Hourani, Doma1,Bohoos11) respectively. The good agreement between predicted and ,experimental values indicated suitability of the model employed and the success of response surface methodology in optimizing the extraction conditions.

**Key words :** Wheat, phenolic compounds , Response surface methodology , Extraction.

---

\*Academic Assistant, Department of Food Sciences, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria.

**مقدمة:**

يعدّ محصول القمح من أهم المحاصيل الحبية الغذائية، وأكثرها انتشاراً في العالم، يؤدي القمح دوراً أساسياً في التغذية، ويستخدم بشكل أساسي في إنتاج الخبز، إضافة إلى استخدامه في صناعة منتجات مختلفة كالمعكرونة، والشعيرية، والفريكة. ينتج احتواء القمح على المركبات الفينولية تأثيرات صحية إيجابية، الأمر الذي يجعله مصدراً محتملاً لمكونات الأغذية الوظيفية؛ إذ يزيد الاهتمام بالفوائد الصحية التي تتضمن تقليل خطر الإصابة ببعض أنواع السرطان، وأمراض الأوعية القلبية. فهناك اعتقاد بأن ازدياد استهلاك الأغذية الغنية بمضادات الأكسدة يخفض من خطر الإصابة بهذه الأمراض [1,2]. تناولت بعض الدراسات الخصائص المضادة للأكسدة، و الخصائص التغذوية، والتركيب الكيميائي لحبوب القمح، و منتجات طحنه [3,4]، وأشارت هذه الدراسات إلى تأثير الطرز الوراثية المختلفة لأصناف القمح في محتواها من المركبات الفينولية [5,6].

توجد معظم المركبات الفينولية في حبوب القمح في النخالة التي عادة ما يتم نزعها عند إجراء عمليات الطحن، ومن المعروف، حالياً، أنّ الطبقة الخارجية تحتوي على العديد من مضادات الأكسدة، و المركبات الفينولية، لذلك يتم تأكيد استخدام الطحين الناتج عن حبوب القمح الكاملة. من جهة ثانية فإنّ المركبات الفينولية عبارة عن ناتج استقلاب ثانوي يصنع في النبات، وهي تملك خصائص بيولوجية، بوصفها مضادات أكسدة، ومضادات شيخوخة، ومضادات سرطان، ومضادات التهاب [7,8].

إنّ أهم المركبات الفينولية الموجودة في القمح هي الأحماض الفينولية (ويعدّ حمض الفيروليك أكثرها وجوداً، إضافة إلى حمض الفانيليك وبارا-كوماريك) والفلافونويدات والبروانثوسيانيدات، حيث توجد بصورة استرات ذاتية [9]. تعرف الأحماض الفينولية، بوصفها مضادات أكسدة قوية، تستخلص بالمذيبات العضوية، كالأسيتون، والميثانول، والإيثانول. تشكل المركبات الفينولية (الهيدروفيلية) الذوابة في الماء أكثر من 98% من القدرة لمضادة للأكسدة الكلية في عينات الحبوب [1].

ويؤثر العديد من العوامل، مثل تركيب المذيب، وزمن الاستخلاص، ودرجة حرارة الاستخلاص، ونسبة المذيب إلى الأجزاء الصلبة، والضغط في كفاءة الاستخلاص. [10,11] وتتأثر استعادة المركبات الفينولية من العينات المختلفة بمدى قطبية مذيبات الاستخلاص المستخدمة، ومدى ذوبان المركبات الفينولية فيها [11,12]. كما تتأثر كفاءة عملية الاستخلاص بعوامل أخرى، أهمها الحرارة، والزمن، وقد تؤثر هذه العوامل بشكل مستقل أو شكل تفاعلي متبادل، لذلك فإنه من الصعوبة بمكان اختيار المذيب المناسب لاستخلاص المركبات الفينولية لمختلف العينات.

تمّ استخدام مذيبات عدة في استخلاص الفينولات من القمح، وتضمنت هذه المذيبات الإيثانول بدرجة حرارة الغرفة، أو بواسطة سوكلست [3,9] الإيثانول بتركيز مختلفة [1]، ميثانول وماء [13]، أسيتون وماء [5]، ميثانول -حمض كلور الماء [14]، حمض كلور الماء، والميثانول، والماء [15]، والإيثانول مذيب مفضل من حيث التكلفة، و قلة السمية مقارنة بالميثانول، كما أنّ الميثانول أكثر كفاءة من الماء في استخلاص الفينولات من بعض أصناف القمح [13].

تعدّ التحليلات الإحصائية من الأدوات المهمة في حل كثير من المشاكل، ومن ثمّ اتخاذ القرارات المناسبة، والتنبؤ بأفضل الشروط. عادة ما يتم معالجة عامل واحد في كل مرة، لإيجاد أفضل الشروط؛ إذ يتم تجاهل تفاعل عوامل عدة مختلفة، لذلك فإن فرصة إيجاد الظروف المثلى منخفضة، إذتفترض عدم وجود تأثير متبادل بين العوامل عند

دراسة عامل واحد في كل مرة. تنتج الاستجابة الفعلية للعملية من تأثير تفاعل متغيرات عدة. على خلاف الطرق التقليدية، فإن الإجراءات الإحصائية تسمح بأخذ تفاعل عوامل عدة بالحسبان، وتعتمد منهجية سطوح الاستجابة من الطرق الإحصائية المهمة، وقد لاقت تطبيقاتها نجاحاً كبيراً في الهندسة الكيميائية، والزراعة، والطب، والبيولوجيا [16]. إن منهجية سطوح الاستجابة تبحث في كيفية الوصول إلى الاستجابة المثلى للمتغير (كمية الفينولات الكلية Y)، ومستويات العوامل للمتغيرات المستقلة A, B, C التي تحقق هذه الاستجابة من أجل بلوغ النقطة المثلى لاستجابة المتغير. [17] وتوسى لإيجاد المفهوم الأحسن للنظام، بوصفه كلاً، والذي يكون أدق في تحديد العلاقة بين متغير الاستجابة والمتغيرات المستقلة. وتعدّ الأسرع، و الأكثر فاعلية من الطرائق الكلاسيكية التي تعالج المتغيرات، كل على حدة، بوصفها أمثلة على استخدامها في استخلاص المركبات الفينولية من التوت [18]، والأنثوسيانين من المشمش [10].

### أهمية البحث وأهدافه:

• تتبع أهمية استخلاص المواد الكيميائية من مصادرها الطبيعية، وتفتيتها من استخدامها في تحضير المكملات الخام، ومكونات الأغذية الوظيفية، والمنتجات الصيدلانية، لذلك لا بد من البحث عن أفضل الشروط للاستخلاص.

• إن تعدد الطرائق المستخدمة في الاستخلاص تجعل من الصعوبة بمكان المقارنة بين نتائج المحتوى الفينولي للنباتات في الأبحاث المخبرية المستقلة، نظراً لاختلاف ظروف الاستخلاص.

• لم يتبين للباحثين في هذا المجال أي أنظمة الاستخلاص هي الأكثر فاعلية لفحص المركبات الفينولية وتحليلها، على لرغم من كون هذه المعلومات شديدة الأهمية؛ إذ إن شروط الاستخلاص ليست معممة، نظراً للطبيعة المتنوعة للمركبات الفينولية الطبيعية الموجودة في النباتات المختلفة.

بناءً على ما سبق تتلخص أهداف البحث في تحديد الشروط المثلى لاستخلاص أعلى كمية من الفينولات الموجودة في القمح الخام، وتقدير كمية الفينولات الكلية الموجودة في بعض أصناف القمح القاسي السوري.

### طرائق البحث ومواده:

#### 1 مواد البحث:

تمّ الحصول على أصناف القمح القاسي صنف دوما 1، وبحوث 11، حوراني من المؤسسة العامة لإكثار البذار فرع اللاذقية خلال عام 2014، أما المذيبات العضوية، و كربونات الصوديوم، و كاشف-Folin-Ciocalteu phenol reagent من شركة Chemie.Scharlau.

#### 2 تحضير العينات:

تمّ طحن عينات القمح القاسي من كل صنف بمطحنة مخبرية (Perten 3170) في مخبر الحبوب التابع للمؤسسة العامة للحبوب فرع اللاذقية، ثم إمرارها على هزاز مناخل نوع (Matest) بثقوب قطرها 60 mesh. تمّ إجراء التحليل في مخبر البحوث في كلية الزراعة - جامعة تشرين [19].

**3 خطوات الاستخلاص:**

1. مزج (10) غ من مطحون كل صنف من أصناف القمح القاسي مع 100 مل مذيب من المذيبات المستخدمة (الأسيتون والإيثانول، والميثانول لمقارنة مع الماء) بتركيز عدة لمدد زمنية مختلفة على درجة حرارة عديدة وفقاً للظروف التجريبية المختبرة.
2. تركيز المزيج بواسطة المبخر الدوار نوع BUCHI على درجة حرارة 40م حتى الوصول إلى حجم نهائي 40 مل.
3. التفتيل بالمتفلة نوع Hettich بسرعة 3000د/د لمدة 10 دقائق.
4. أخذ السائل الرائق للتحليل [19].

**4 تحديد المحتوى الفينولي الكلي بطريقة فولين - سيوكالتو:**

تم أخذ 50µl من العينة المطلوب تقدير تركيز الفينولات فيها (المستخلصات) في أنبوب الاختبار، وتم إضافة 250µl من كاشف فولين سيوكالتو Folin-Ciocalteu، و 750µl من كربونات الصوديوم 20%، و 3مل من الماء المقطر، وبعد وضع العينات في مكان مظلم لمدة ساعتين على درجة حرارة الغرفة، تم قياس الامتصاص الضوئي بواسطة جهاز سبيكتروفوتومتر (JascoV-530) على طول موجة 765 نانومتر، وتم الحساب المحتوى الفينولي على أساس مغم مكافئ حمض الغاليك/ غ من العينة الجافة؛ إذ تم تحضير منحنى معيار بتركيز مختلفة من حمض غاليك [3].

**5 تحديد الشروط الملائمة للاستخلاص:**

تم في البداية تحديد وسط الاستخلاص في مزيج المذيب باستخدام ثلاثة عوامل هي: تركيز المذيب، ودرجة الحرارة، والزمن، وثلاثة مستويات لهذه العوامل؛ إذ تم تحديد هذه المستويات من خلال تجارب أولية، أجريت لاختيار المذيب الأفضل من بين الأسيتون، والإيثانول، والميثانول لمقارنة مع الماء. وقد تم تحضير العينات، واستخلاص الفينولات، وتقدير المحتوى الفينولي وفقاً لطريقة الفولين سيوكالتو. ولتحديد التركيز المناسب تم تطبيق تركيز مختلفة من مزيج المذيب و الماء هي (25، 50، 75، 100%) مقارنة بالماء على درجة حرارة 30م ولمدة ساعة. أما تحديد درجة حرارة الاستخلاص الأفضل فقد استخدمت أربع درجات حرارة هي (30، 45، 60، و 75 م)، وتم تحديد زمن الاستخلاص الأفضل من بين خمسة أزمنة مختلفة هي (15، 30، 45، 60، و 75 دقيقة).

**6 تصميم التجربة:**

بعد إجراء التجارب الأولية استخدمت أفضل القيم الناتجة من أجل تحديد أفضل شروط الاستخلاص باستخدام تصميم Central Composite Design الذي يتضمن إجراء 20 تجربة تتوزع العوامل فيها بشكل عشوائي من خلال ثلاث مكررات للنقط التجريبية، إن المتغيرات المدروسة هي: العامل الأول تركيز المذيب (A = %، v/v،)، والعامل الثاني درجة حرارة الاستخلاص (B=C)، والعامل الثالث زمن الاستخلاص (C=min)، بينما عامل الاستجابة كان كمية الفينولات الكلية؛ إذ تم التعبير عن القيم بـ GAE/ g dry weightmg.

**7 تحليل البيانات:**

تم استخدام تحليل الانحدار لسطوح الاستجابة (برمجيات Stat Ease، Design Expert ver. 9. USA) لتحليل بيانات التجربة؛ إذ وافقت بيانات التجربة نموذج متعدد حدود من الدرجة الثانية، و المعادلة العامة هي كما يأتي:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i < j=1}^3 \sum_{j=1}^3 \beta_{ij} X_i X_j,$$

إذ إن  $Y$  هي متحول التابع الاستجابة بينما  $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$  عبارة عن ثوابت يراد تقديرها،  $X_i, X_j$  هي متحولات مستقلة. تستخدم برمجيات DesignExpert لخلق سطوح استجابة والمخططات، بينما تحمل ثوابت المتغيرات في نموذج متعدد الحدود من الدرجة الثانية. إن مدى ملاءمة معادلة النموذج من الدرجة الثانية تظهر من خلال تحديد معامل التحديد  $R^2$ ، واختبار نقص المطابقة من خلال الفحص باختبار  $F$ .

#### 7-1 معاملات التحديد :

وهو يمثل بمعامل الارتباط، وكلما كانت قيمة  $R^2$  قريبة من الواحد ازداد تطابق البيانات بين النتائج الفعلية، والقيم المحسوبة من خلال النموذج.

#### 7-2 اختبار نقص المطابقة:

إن من الأخطاء الشائعة اعتماد نتيجة جدول تحليل التباين للانحدار من دون معالجة مربعات الخطأ الكلي، وتأثيره في قيمة اختبار  $F$ ، الأمر الذي يترتب عليه اعتماد نتائج مضللة، علماً أن القيم الكبيرة لمعامل التحديد لا تؤكد أن البيانات قد تمت مطابقتها للنموذج بصورة جيدة. ويتم حسابه على الشكل الآتي: 1- مجموع مربعات أخطاء النموذج  $SS(p.e)$ .

$$2- \text{مجموع مربعات نقص المطابقة } SS(L.O.F) = SS_e - SS(p.e)$$

$$\text{أما احتساب اختبار نقص المطابقة فيتم عبر الصيغة الآتية: } F = MS(L.O.F) / MS(p.e)$$

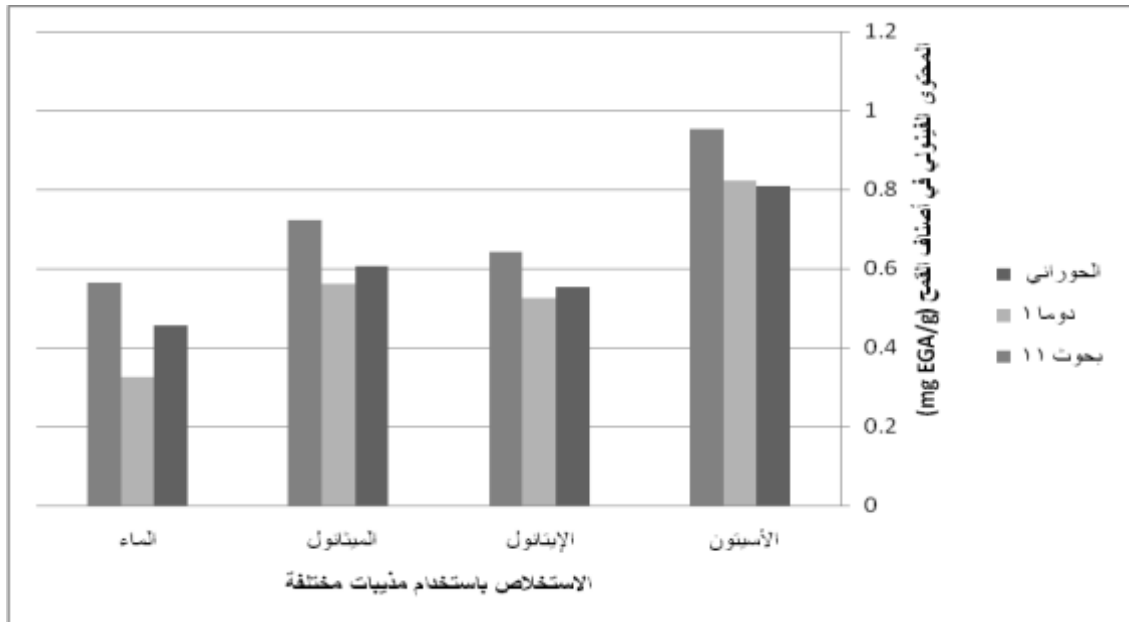
#### 8 اختبار موثوقية النموذج:

تعتمد الظروف المثالية لاستخلاص المركبات الفينولية من القمح على المذيب، وحرارة الاستخلاص، وزمن الاستخلاص المستحصل عليها باستخدام معادلات التنبؤ من منهجية سطوح الاستجابة. تتم تحديد المركبات الفينولية تحت الشروط المثلى للاستخلاص، ثم مقارنة القيم الفعلية والنظرية لتحديد صلاحية النموذج.

### النتائج والمناقشة:

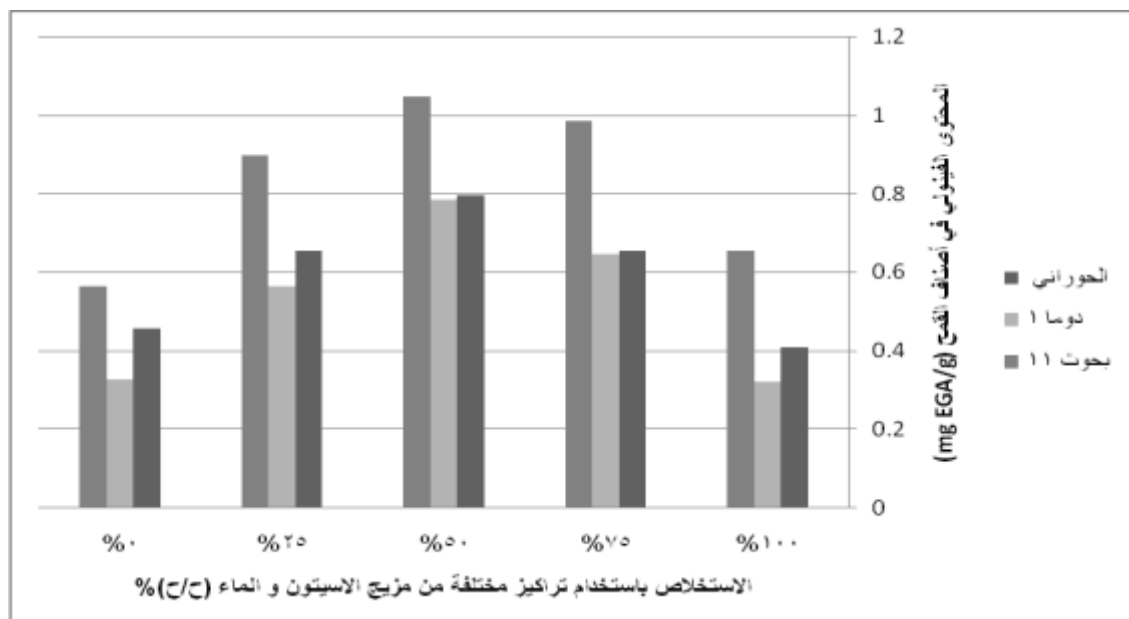
#### 1 نتائج التجارب الأولية لاختيار مستويات القيم العليا، والوسطى، والدنيا للمتغيرات:

تم تحديد المستويات الدنيا والوسطى والعليا لتصميم المتغيرات المستقلة المستخدمة في سطوح الاستجابة بناءً على القيم الناتجة في التجارب الأولية؛ إذ أظهرت نتائج التجارب الأولية أن الأسيتون أعطى أفضل نتائج، بوصفه وسطاً لاستخلاص المركبات الفينولية في التجربة مقارنة بالمذيبات العضوية الأخرى (الإيثانول، والميثانول)، و الماء كما يظهر في الشكل (1).



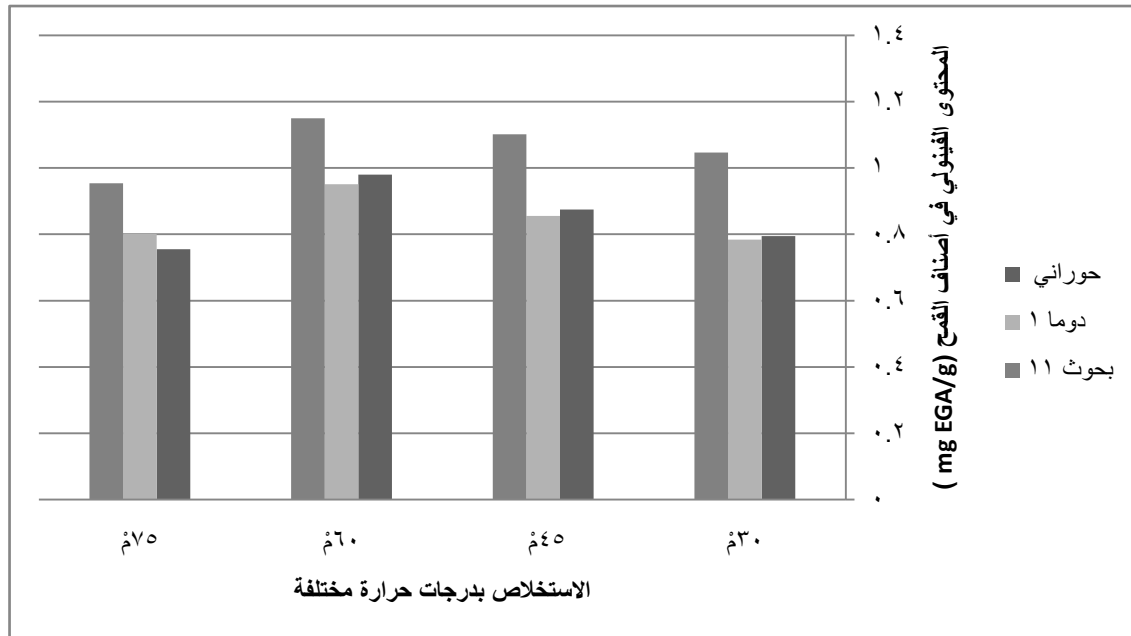
الشكل (1) : يظهر المحتوى الفينولي في أصناف القمح عند الاستخلاص باستخدام مذيبات مختلفة

ونلاحظ من الشكل (2) أن الأسيتون بتركيز قدره 50% أعطى أعلى معدل لاستخلاص المركبات الفينولية. إنَّ أفضلية استخدام الاسيتون بتركيز 50% يتوافق مع نتائج (Zhou *et al.*, 2004). [4]، كما يتوافق مع نتائج (Safaa *et al.*, 2014) عند استخدام مذيبات مختلفة لاستخلاص المركبات ثلثفينولية من أصناف القمح المصري، لذلك تمَّ تحديد المستويات الأعلى و الأدنى بناءً على النتائج السابقة، وكانت القيم (75%-50%-25%)، ويفسر انخفاض الاستخلاص عند تركيز 100% بأن بعض المركبات الدهنية تمَّ استخلاصها، مما قد يحدّ من استخلاص المركبات الفينولية من أصناف القمح المختلفة.



الشكل (2) : يظهر المحتوى الفينولي في أصناف القمح عند الاستخلاص باستخدام تراكيز مختلفة.

ويظهر في الشكل (3) ازدياد كمية الفينولات الكلية في المستخلص مع ارتفاع درجة الحرارة حتى درجة 60 م ثم الانخفاض.

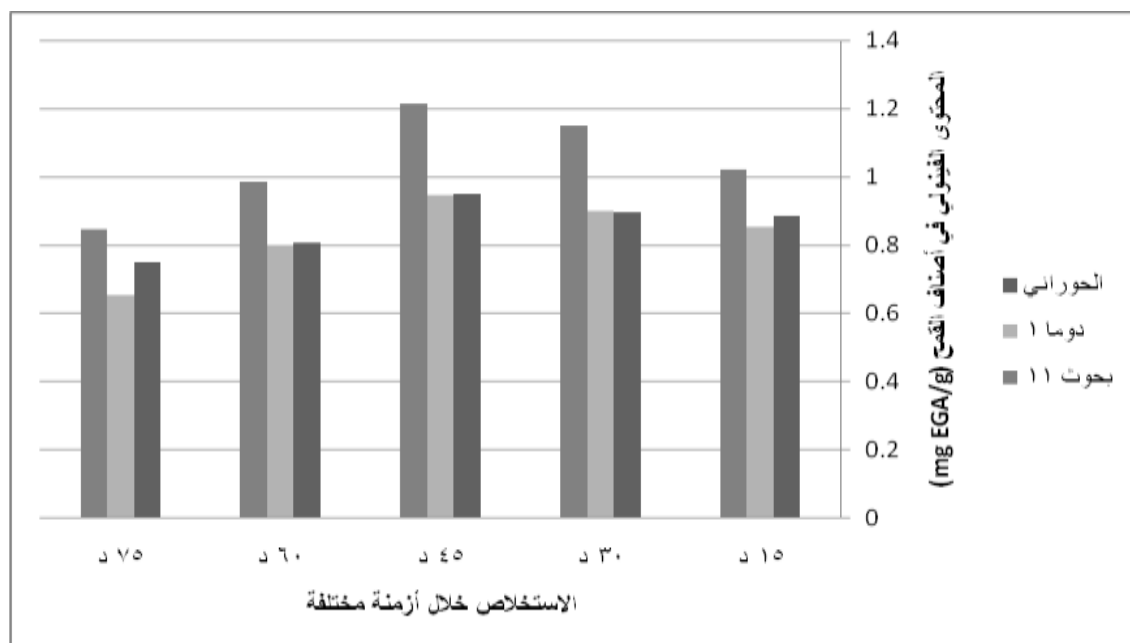


الشكل (3) : يظهر المحتوى الفينولي في أصناف القمح عند الاستخلاص بدرجات حرارة مختلفة .

أشارت النتائج إلى أنّ حركة انتقال المركبات الفعالة من الركيزة تلاحظ حتى حد معين، وبعد ذلك يبدأ احتمال خسارتها؛ بسبب تفككها في درجات الحرارة الأعلى. إنّ الحرارة الأعلى تستطيع أن تحرك مركبات فينولية معينة، بينما تشجع احتمال تخريب مركبات أخرى قد انتقلت مسبقاً عند درجات حرارة أقل. رفع درجة الحرارة قد يحسن الاستخلاص من خلال تعزيز ذوبان المركبات الفينولية في المذيب؛ بذلك يقل زمن الاستخلاص [9]. ومما قد يفسر ذلك أيضاً انخفاض اللزوجة، الأمر الذي يسرع الاستخلاص. نلاحظ أنه بارتفاع درجة الحرارة زادت نسبة الاستخلاص؛ إذ يمكن أن يسهم ارتفاع درجة الحرارة بتحرير مركبات فينولية محررة أو حلمتها، مثل الفايستول، و الإيثوسيانين، وهذا يتفق مع ما وجدته [20,21]؛ إذ أعطت مستخلصات القمح أعلى استخلاص للمركبات الفينولية عند درجة 60 م ، الأمر الذي جعلنا نختار (45، 60، 75) م ، بوصفها مستويات أقل، وأوسط، وأعلى.

اختيار زمن الاستخلاص كان الخطوة الأخيرة في سلسلة التجارب الأولية؛ إذ تمّ استخلاص المركبات الفينولية من عينات القمح من خلال تفاوت زمن الاستخلاص مع استخدام الأسيبتون 50%، وإبقاء درجة الحرارة على 60 م؛ إذ أظهرت النتائج في الشكل (4) ارتفاعاً في معدل الاستخلاص، مع زيادة زمن الاستخلاص من 30 د إلى 45 د وما بعد 60 د قد انخفض بشدة. وقد يعود ذلك إلى تفكك المركبات الفعالة خلال طول فترة الاستخلاص، لذلك فإن زمن الاستخلاص يشكل عاملاً آخر مهماً، يؤثر في استخلاص المركبات الفينولية، تمّ تحديد أفضل زمن للاستخلاص بـ 60 د تقريباً، لذلك تمّ اختيار الأزمنة الآتية (30، 45، 60) د.





الشكل (4) : يظهر المحتوى الفينولي في أصناف القمح عند الاستخلاص خلال أزمنة مختلفة .

## 2 تصميم النموذج:

المستويات المختلفة للمتغيرات المستقلة من تركيز مذيب، ودرجة حرارة، وزمن، كما يظهر في الجدول (1).

الجدول (1) : يظهر المستويات المختلفة للمتغيرات المستقلة المدروسة.

المتغير	اسم العامل المتغير	الوحدة	الحد الأدنى	الحد الأعلى	المتوسط
A	تركيز المذيب	ح/ %	60	100	80
B	درجة الحرارة	درجة مئوية	55	65	60
C	الزمن	دقيقة	45	75	60

بعد إجراء التجارب المختلفة، كما هو موضح في الجدول ( 2 )، والحصول على البيانات التجريبية، تم معالجة

البيانات بواسطة البرنامج، والحصول على القيم المتوقعة، وفق النموذج؛ إذ ظهرت النتائج كما يأتي:

الجدول(2): تصميم التجربة، ونتائجالبيانات التجريبية، و القيم المتوقعة  
لاستخلاص المركبات الفينوليةمن أصناف القمح تحت ظروف استخلاص مختلفة .

رقم التجربة	التركيز ح/ح %	درجة الحرارة(م)	الزمن (د)	المحتوى الفينولي في الصنف الحوراني		المحتوى الفينولي في الصنف دوما 1		المحتوى الفينولي في الصنف بحوث 11	
				البيانات التجريبية	القيم المتوقعة	البيانات التجريبية	القيم المتوقعة	البيانات التجريبية	القيم المتوقعة
1	25	75	60	0.544	0.57	0.678	0.69	0.847	0.85
2	6	60	45	0.448	0.43	0.445	0.43	0.754	0.73
3	50	60	45	0.95	0.95	0.947	0.94	1.321	1.25
4	50	60	45	0.951	0.95	0.939	0.94	1.319	1.25
5	25	45	60	0.755	0.76	0.784	0.78	0.981	0.97
6	50	60	70	0.754	0.74	0.745	0.73	1.085	1.09
7	50	60	45	0.948	0.95	0.945	0.94	1.322	1.25
8	50	85	45	0.384	0.39	0.345	0.35	0.785	0.79
9	50	60	45	0.952	0.95	0.942	0.94	1.318	1.25
10	75	75	60	0.458	0.48	0.684	0.68	0.854	0.84
11	25	75	30	0.555	0.58	0.584	0.58	0.947	0.94
12	50	60	20	0.887	0.87	0.864	0.88	1.121	1.05
13	50	60	45	0.95	0.95	0.945	0.94	1.317	1.25
14	75	45	30	0.687	0.70	0.701	0.68	0.954	0.94
15	50	35	45	0.854	0.87	0.845	0.85	0.985	0.99
16	25	45	30	0.795	0.80	0.764	0.78	1.047	1.09
17	75	45	60	0.575	0.58	0.711	0.70	0.964	0.96
18	75	75	30	0.545	0.56	0.748	0.73	0.954	0.93
19	75	60	45	0.698	0.70	0.721	0.71	1.054	1.04
20	50	60	45	0.949	0.95	0.94	0.94	1.324	1.26

أظهر تحليل التباين (ANOVA) أن النموذج المختار من الدرجة الثانية يمثل البيانات المستحصل عليها بشكل كافٍ، يظهر في الجدول (3) نتائج تحليل التباين ANOVA للمركبات الفينولية؛ إذ نلاحظ أن قيمة  $p < 0.0001$  عند استخدام النموذج تشير إلى اختلاف الاستجابة المتوقعة عند اختلاف شروط الاستخلاص، وملاءمة النموذج لتوقع الاستجابة في شروط الاستخلاص المختلفة. كما يظهر عدم معنوية اختبار نقص المطابقة، الأمر الذي يؤكد مناسبة النموذج المستخدم للبيانات.

الجدول (3) : تحليل التباين ANOVA للنموذج المستخدم لأصناف القمح الثلاثة.

p-value Prob> F	F قيمة	متوسط مجموع مربعات	درجات الحرية	مجموع المربعات	مصدر التباين	
< 0.0001	58.77***	0.032	9	0.29	النموذج	صنف حراري
0.0412	5.47	1.095	5	5.473	نقص المطابقة	
		0.2	5	1.000	خطأ النموذج	
			19	0.30	الخطأ الكلي	
< 0.0001	50.02***	0.025	9	0.22	النموذج	Iوما
0.0822	9.81	9.813	5	4.90	نقص المطابقة	
		1.00	5	5.00	الخطأ النقي	
			19	0.23	الخطأ الكلي	
< 0.0001	35.77***	0.054	9	0.49	النموذج	صنف بحرث II
0.003	1.131	3.018	5	0.015	نقص المطابقة	
		2.667	5	1.333	الخطأ النقي	
			19	0.50	الخطأ الكلي	

تمّ تحديد أهمية كل معامل من خلال قيمة F في الجدول (4)، نلاحظ أن الحرارة كان لها أكبر الأثر في استخلاص المركبات الفينولية  $p < 0.0001$ . وقد أظهر تحليل التباين ANOVA لثوابت انحدار سطوح الاستجابة المتوقعة في نموذج كثير حدود من الدرجة الثانية للمركبات فينولية لأصناف القمح أن كلاً من المؤشرات الخطية و التربيعية كانت معنوية بشكل عالٍ ( $p < 0.001$  or  $p < 0.05$ ) لكل مستخلصات القمح. على كل حال، التأثير المشترك أو التفاعلي لتلك العوامل لا ينتج تأثيراً معنوياً. يظهر التأثير الخطي و التربيعي للمتغيرات المستقلة بشكل إيجابياً و سلبياً. إن كلاً من تركيز المذيب، والحرارة، والزمن يسهم بشكل ملحوظ في الاستجابة التي تؤدي دوراً حدياً في الاستخلاص.

قيمت كفاءة النموذج بوساطة معامل تحديد  $R^2$ ، كما يظهر في الجدول (4)، حيث تراوح بين 0.94 - 0.98. نلاحظ أن قيم  $R^2$  مرتفعة، مما يشير إلى مدى ارتباط ( $r \geq 0.94$ ,  $p < 0.01$ ) لكل أصناف القمح. ظهرت نماذج التوقع التي تمثل إلى حد معقول النتائج الفعلية، نتيجة لذلك تمّ تفسير جزء كبير من المتغيرات من خلال نماذج RSM للمركبات الفينولية. إن الاستجابة قد شرحت بما فيه الكفاية من خلال النموذج، فانخفاض مؤشر نقص مطابقة النموذج يقوي الثقة بالنموذج.

علاوة على ذلك، يصف معامل الاختلاف (CV) لمدى تشتت البيانات. إن معامل الاختلاف CV للمركبات الفينولية جدول (4) لكل صنف من القمح كان ضمن الحد المقبول.

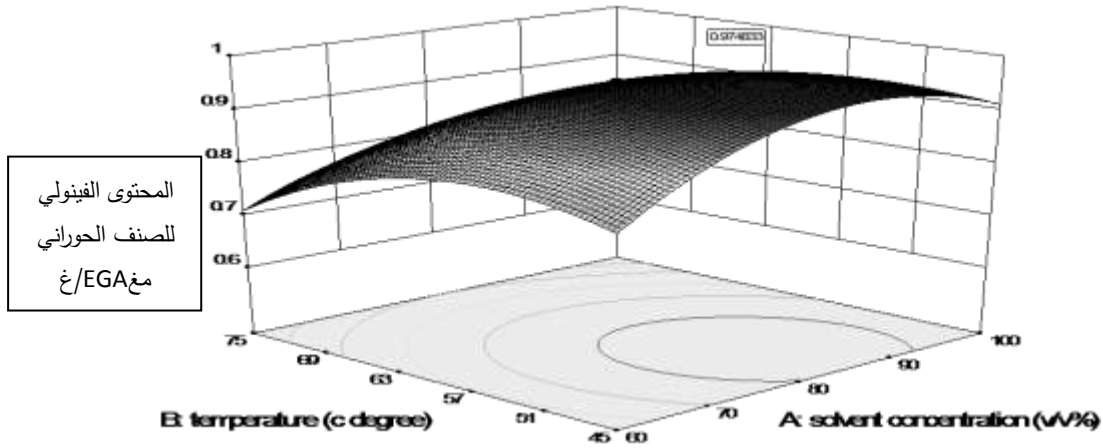
الجدول (4) : تحليل التباين ANOVA لثوابت انحدار سطوح الاستجابة في نموذج كثير حدود من الدرجة الثانية.

المحتوى الفينولي في بحوث I1	المحتوى الفينولي في دوما I	المحتوى الفينولي في الحوراني	ثوابت معاملات الانحدار	
1.311	0.9311	0.947	$\beta_0$ Intercept	
0.01384-	0.0078	0.0474-***	تركيز المذيب A	الخطي
0.0499-***	0.0810-***	0.1101-***	درجة الحرارة B	
0.0233115-*	0.0102-	0.03479-***	الزمن C	
0.0155	0.03825	0.024	تركيز المذيب والحرارة AB	المشترك التفاعلي
0.0095	0.021-	0.0185-	تركيز المذيب والزمن AC	
0.018-	2.9253	0.00675	الحرارة والزمن BC	
0.17866-***	0.1314-***	0.1840-***	تركيز المذيب $A^2$	التربيعي
0.1436-***	**0.1022	**0.1145	درجة الحرارة $B^2$	
0.06515-***	0.0268-	0.0419-***	الزمن $C^2$	
1.00±0.039	0.82±0.022	0.82±0.023	المتوسط ± الانحراف المعياري	
0.9699	0.9783	0.9814	معامل التحديد $R^2$	
3.90	2.72	2.85	C.V. %	

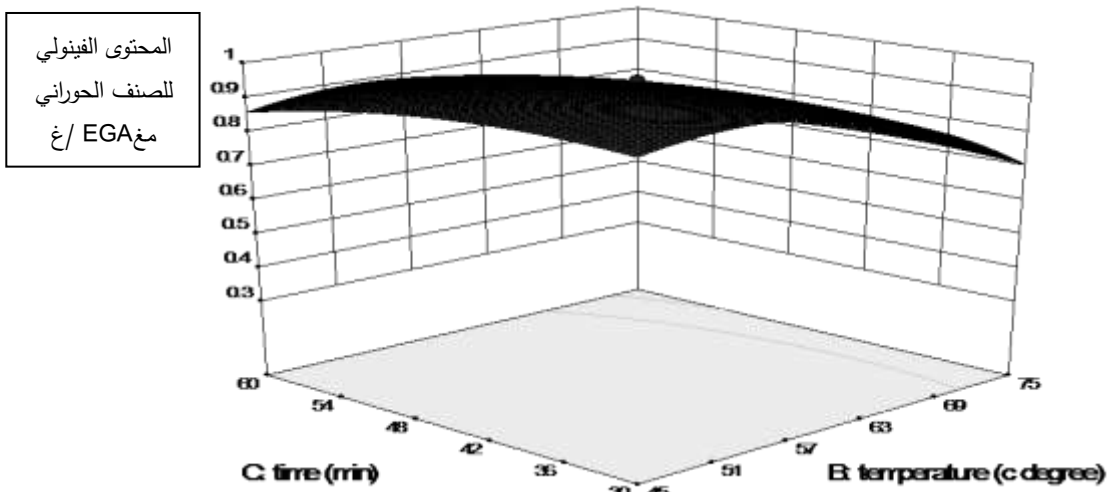
\* معنوي عند مستوى 5% ، \*\* معنوي عند مستوى 1 .

### 3 تحليل سطوح الاستجابة :

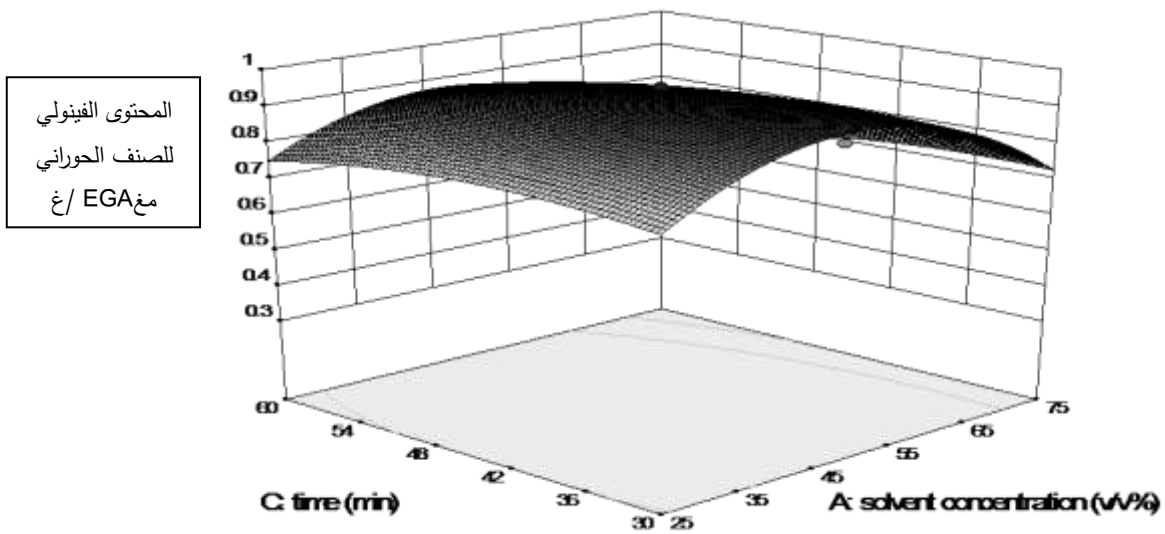
العلاقة بين المتغيرات المستقلة والمرتبطة موضحة في تمثيل ثلاثي الأبعاد لسطوح الاستجابة؛ إذ يوصف الشكل (5) تأثير عاملين من المتغيرات، هما تركيز المذيب و درجة الحرارة، في محتوى القمح الحوراني من المركبات الفينولية، ويبرهن تأثير تركيز المذيب من الدرجة الثانية على الاستجابة؛ إذ ترتفع مركبات فينولية لحدود 50% تركيز مذيب عضوي في الوسط، يتبعها انخفاض مع ارتفاع التركيز. كما يظهر أنّ تأثير درجة حرارة من الدرجة الثانية في استخلاص المركبات الفينولية. عندما تم إبقاء الزمن على 60 دقيقة فإنّ الحرارة قد سببت ازدياداً في الاستجابة على مستويات صغرى من تراكيز المذيب في الوسط. عند مستويات أقل، أو أعلى لتراكيز المذيب فإنّ ازدياد الحرارة يزيد الاستجابة أيضاً. ويظهر الشكل (6) تأثير الحرارة والزمن في قيم الاستخلاص في الصنف الحوراني، بشكل مماثل فإن تأثير العاملين كليهما من الدرجة الثانية يتم حيث يزداد الاستخلاص عند زيادة الزمن حتى حدّ معين، ثم ينخفض نتيجة تفكك المركبات الفينولية بتأثير الحرارة، و طول مدة الاستخلاص. أما الشكل (7) فيبين تأثير عاملين هما: تركيز المذيب، وزمن الاستخلاص في الصنف الحوراني.



الشكل (5) : تأثير الحرارة و تركيز المذيب على الاستخلاص من الصنف الحوراني

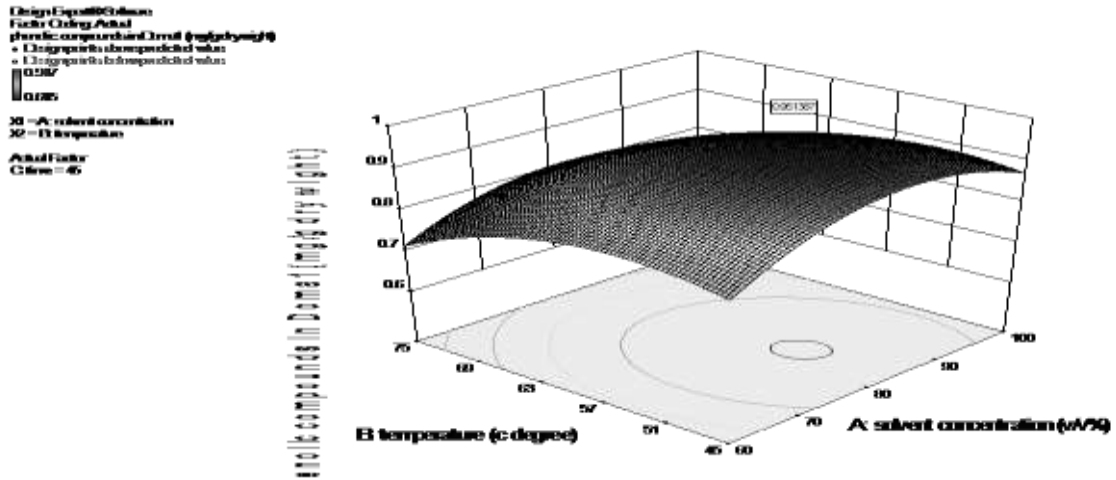


الشكل (6) : تأثير الزمن، و درجة الحرارة في الاستخلاص من الصنف الحوراني.

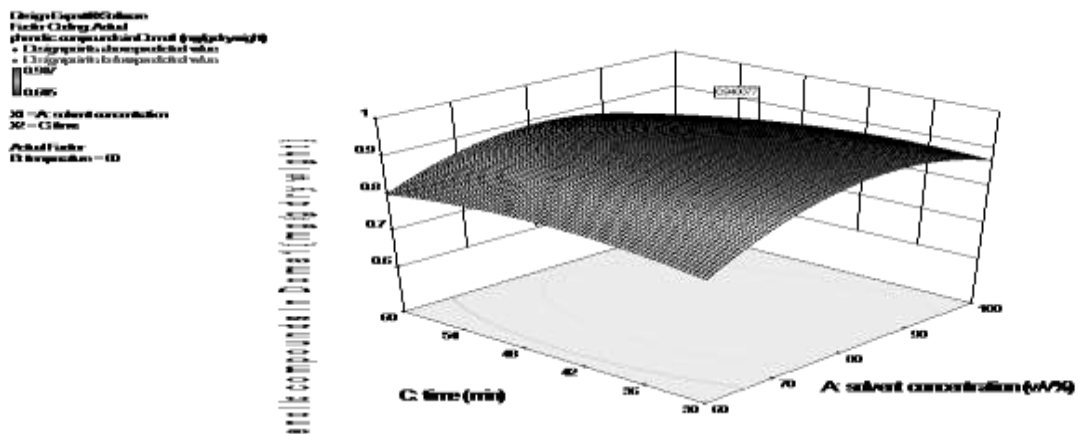


الشكل (7) : تأثير الزمن، وتركيز المذيبي الاستخلاص من الصنف الحوراني.

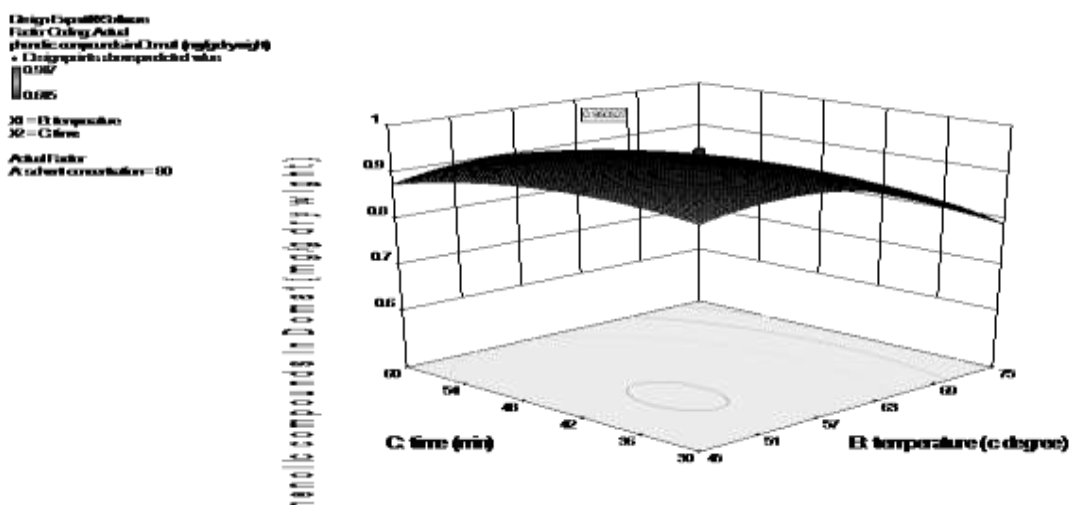
و بشكل مشابه تظهر سطوح الاستجابة للصنف دوما 1 في الأشكال (8) و (9) و (10) حيث نلاحظ تأثير العوامل الثلاثة في استخلاص المركبات الفينولية.



الشكل (8) : تأثير الحرارة، و تركيز المذيب على استخلاص المركبات الفينولية من صنف دوما 1.

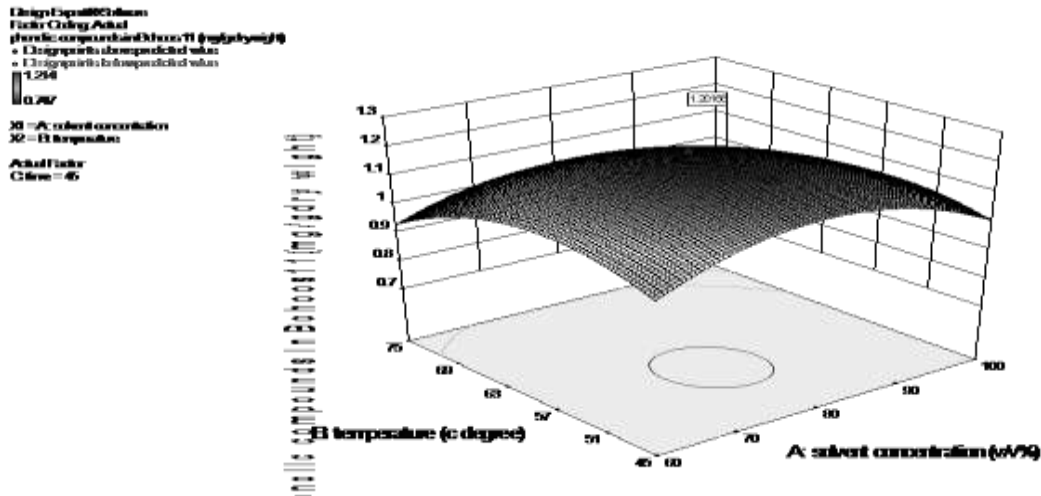


الشكل (9) : تأثير الزمن، و تركيز المذيب في استخلاص المركبات الفينولية من صنف دوما 1.

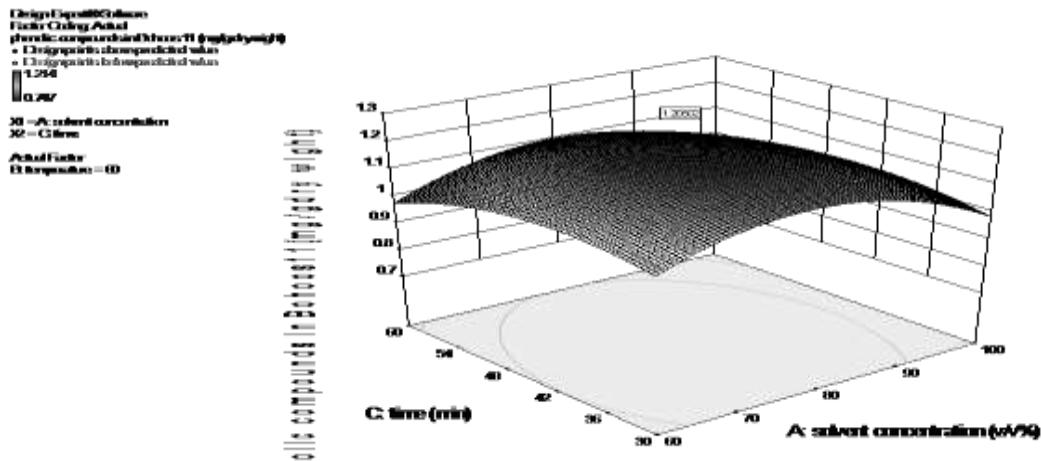


الشكل (10) : تأثير الحرارة، و الزمن في استخلاص المركبات الفينولية من صنف دوما 1.

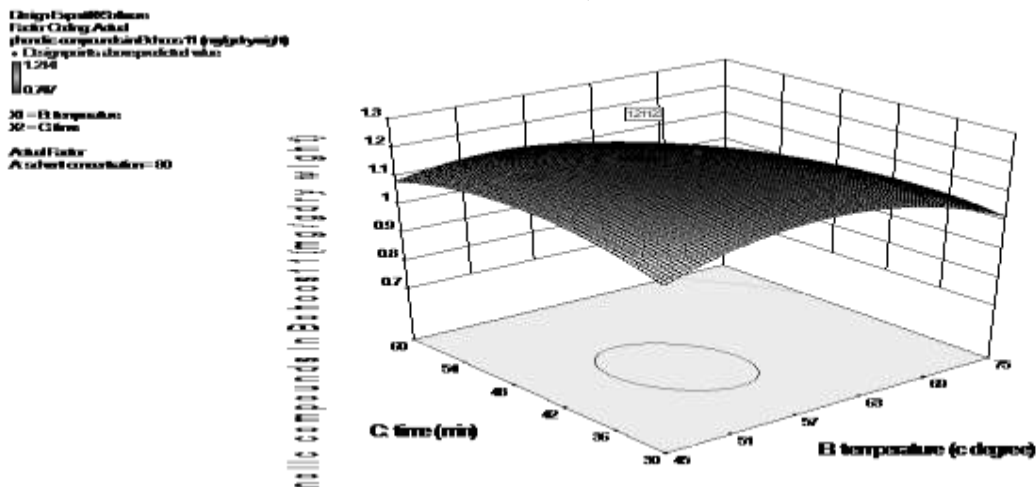
ويظهر تأثير عوامل الاستخلاص في المحتوى الفينولي في صنف بحوث 11 في الأشكال (11) و (12) و (13) الآتية.



الشكل (11) : تأثير الحرارة، و تركيز المذيب في استخلاص المركبات الفينولية من صنف بحوث 11.



الشكل (12) : تأثير تركيز المذيب، و الزمن في استخلاص المركبات الفينولية من صنف بحوث 11.



الشكل (13) : تأثير الحرارة، و الزمن في استخلاص المركبات الفينولية من صنف بحوث 11.

#### 4 تجارب الموثوقية:

يؤدي إثبات التجارب إلى تنبؤ الشروط المستنتجة من تحليل قمم الـ RSM؛ إذ يظهر أن القيم التجريبية كانت إلى حد معقول قريبة من القيم المتوقعة، مما يعزز صلاحية النماذج و كفايتها.

#### الاستنتاجات و التوصيات:

1. إن الارتباط العالي للنموذج يظهر أن نموذجاً كثير الحدود من الدرجة الثانية يمكن أن يستعمل في الوصول إلى أفضل استخلاص ممكن من المركبات الفينولية من القمح.
2. وجد أنّ المحلول المائي للأستيون كان الأكثر فاعلية في استخلاص المركبات الفينولية.
3. إنّ شروط الاستخلاص للمركبات الفينولية موضحة في الجدول (5) :

الجدول (5) : الشروط المثلى، و القيم المتوقعة وفق النموذج و النتائج التجريبية عند تطبيق تلك الشروط.

الشروط المثلى		تركيز مذيب	49.5%
		درجة حرارة	55.5م
		زمن	42.5د
القيم المتوقعة عند الشروط المثلى (مع مكافئ حمض غاليك / غ وزن جافة)		النتائج التجريبية عند الشروط المثلى (مع مكافئ حمض غاليك / غ وزن جافة)	
الصنف حوراني	0.976	الصنف حوراني	0.05±0.965
صنف دوما 1	0.947	صنف دوما 1	0.03±0.932
صنف بحوث 11	1.316	صنف بحوث 11	0.06± 1.214

نلاحظ أن صنف بحوث 11 قد تفوق بشكل واضح على الصنفين الآخرين و تحت تلك الظروف المحسنة اتفقت القيم النظرية مع القيم المتوقعة بالتحليل .

4. تسمح الشروط التجريبية باستخلاص سريع، و كمي، و أعظمي للمركبات الفينولية.
5. يوصى باستخدام سطوح الاستجابة في العديد من التطبيقات الكيميائية، و بفاعلية كبيرة.



## المراجع:

- 1 – ADOM, K. K.; SORRELLS, M.; LIU, R. H. *Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties*. J. Agric. Food Chem. 51, 2003, 7825–7834.
- 2 – WARD, J.L.; POUTANEN, K.; GEBRUERS, K.; PIIRONEN, V.; LAMPI, A.M. *The health grain cereal diversity screen: concept, results and prospects*. J. Agric. Food Chem. 56, 2008, 9699–9709.
- 3 - YU, L.; PERRET, J.; HARRIS, M.; WILSON, J.; HALEY, S. *Antioxidant properties of bran extracts from “Akron” wheat grown at different locations*. J. Agric. Food Chem., 51, 2003, 1566–1570.
- 4 –ZHOU, K.; LAUX, J. J.; YU, L. *Comparison of Swiss red wheat grain and fractions from their antioxidant properties*. J. Agric. Food Chem., 52, 2004, 1118–1123.
- 5 – ABOZED, S. S.; EL-KALYOUBI, M.; ABDELRAHMAN, A.; SALAMA, M. F. *Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran*. Annals Agric. Sci., 2014, 59(1), 63–67.
- 6- MOORE, J.; LIU, J.G.; ZHOU, K.; YU, L. *Effects of genotype and environment on the antioxidant properties of hard winter wheat bran*. J. Agric. Food Chem. 54, 2006, 5313–5322.
- 7-HEMERY, Y.; ROUAU, X.; LULLIEN-PELLERIN, V.; BARRON, C.; ABECASSIS, J. *Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality*. J. Cereal Sci. 46, 2007, 327–347
- 8-HAN, X.; SHEN, T.; LOU, H. *Dietary polyphenols and their biological significance*. Int. J. Mole. Sci. 8, 2007, 950–988.
- 9-YU, L.; PERRET, J.; DAVY, B. *Antioxidant properties of cereal products*. J. Food Sci., 67, 2002, 2600–2603.
- 10- CACACE, J. E.; MAZZA, G. *Optimization of extraction of anthocyanins from blackcurrants with aqueous ethanol*. J. Food Sci., 68, 2003, 240–248.
- 11-ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A.A. *Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents*. Food Chem. 115, 2009, 785–788.
- 12-SULAIMAN, S.F.; SAJAK, A.A.B.; SUPRIANTO, K.L.O.; SEOW, E.M., *Effect of solvents in extracting polyphenols and antioxidants of selected raw vegetables*. J. Food Compos. Anal. 24, 2011, 506–515.
- 13- ZIELINSKI, H.; KOZLOWSKA, H. *Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions*. J. Agric. Food Chem., 48, 2000, 2008–2016.
- 14-ABDEL-AAL, E.; HUCL, P. *Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat*. J. Agric. Food Chem., 51, 2003, 2174–2180.
- 15- GAO, L.; WANG, S.; OOMAH, B. D.; MAZZA, G. *Wheat quality: Antioxidant activity of wheat millstreams*. In *Wheat Quality Elucidation*; Ng, P., Wrigley, C. W., Eds.; AACC International: St. Paul, MN, 2002; 219–233.
- 16-MONTGOMERY, D. C. *Design and analysis of experiments*. 5<sup>th</sup>. ed. Wiley. New York, 2001.
- 17-MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. *Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments*. 2<sup>nd</sup>. ed. Wiley. New York, 2002.

18-CACACE, J. E.; MAZZA, G. *Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries*. J. Food Engineering, 59, 2003, 379–389.

19- OKAI, K. H.; KANBARA, K.; HAGIWARA, A.; SUGITA, C. MATSUMOTO, N. *Potent antioxidative and antigenotoxic activity in aqueous extract of Japanese rice bran – Association with peroxidase activity*. Phyto. ther. Res. 18, 2004, 628– 633.

20- INGLETT, G. E.; ROSE, D. J.; CHEN, D.; STEVENSON, D.G. *Phenolic content and antioxidant activity of extracts from whole buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Mench) with or without microwave irradiation*. Food Chem., 119, 2010, 1216–1219.

21-VAHER, M.; MATSO, K.; LEVANDI, T.; HELMJA, K.; KALJURAND, M. *Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties*. Proced. Chem. 2, 2010, 76–82.