دراسة الشروط المثلى لعملية استخلاص الصبغة البيتالين من الشوندر الأحمر

طالبة الدرسات العليا: م. علا دياب
بإشراف: د. عبد العزيز عبارة +د. نسرين البيطار

الملخص:

في إطار البحث عن حلول مستدامة للتغلُّب على الطابع الموسمي للشوندر الأحمر، تم تحضير صبغة من الشوندر الأحمر غنية بالبيتالين والمركبات الفينولية ومضادات الأكسدة الطبيعية بواسطة الاستخلاص المائي لصبغة الشوندر الأحمر بمساعدة الأمواج فوق الصوتية من شرائح الشوندر الأحمر المطحونة والمجففة عند بداية التخزين وبعد ستة أشهر من التخزين. استخدم تصميم تجربة عاملية كاملة بمستويين لدراسة تأثير كل من درجة الحرارة 20-31-60°م الزمن 2-40-60 دقيقة والتركيز 2غ/100 مل و10غ/100مل و 6غ/100مل في. أظهرت النتائج أن الظروف المثلى للاستخلاص تحققت عند درجة حرارة60°م لمدة 60 دقيقة وبتركيز 10غ/100مل، حيث وصل تركيز كلا من البيتالين والفينولات ومضادات الأكسدة (DPPH)، 78.25غ/100مل، و183ملغ من حمض الغاليك /ل و95% على التوالي. وأظهرت نتائج الدراسة أيضا أنه يمكن الحصول على صبغة غنية بالمركبات الحيوية الفعالة من عينات الشوندر الأحمر المجففة والمخزنة لمدة ستة أشهر عند درجة حرارة 5 °م وبنفس شروط الاستخلاص في بداية التخزين إذ بلغ محتوى الصبغة من البيتالين 73.25غ/100مل، والفينولات الكلية 180ملغ من حمض الغاليك /ل ومضادات الأكسدة 95%

الكلمات المفتاحية: الشوندر الأحمر، البيتالين، DPPH، الفينولات الكلية

Abstract:

In the context of searching for sustainable solutions to overcome the seasonal nature of red beet, a dye rich in betalains, phenolic compounds, and natural antioxidants was prepared from red beet using aqueous extraction assisted by ultrasound waves. The extraction was performed on ground and dried red beet slices at the beginning of storage and after six months of storage. A full factorial experimental design with two levels was used to study the effect of temperature (20, 31, 60°C), time (2, 40, 60 minutes), and concentration (2g/100ml, 10g/100ml, and 6g/100ml) on the extraction process.The results showed that the optimal extraction conditions were achieved at a temperature of 60°C for 60 minutes with a concentration of 10g/100ml. Under these conditions, the concentrations of betalains, phenolics, and antioxidants (DPPH) reached 78.25g/100ml, 183 mg gallic acid/L, and 95%, respectively.The study results also showed that a dye rich in bioactive compounds can be obtained from dried red beet samples stored for six months at 5°C using the same extraction conditions as at the beginning of storage. The dye content reached 73.25g/100ml for betalains, 180 mg gallic acid/L for total phenolics, and 95% for antioxidants.

Keywords: Red beet, Betalains, DPPH, Total phenolics.

المقدمة:

يُعدُّ الشوندر الأحمر (*Beta vulgaris L*) أحد أكثر المحاصيل الجذرية انتشارًا، وينتمي إلى الفصيلة الرمرامية (*Chenopodiaceae*). يتميز هذا النبات باحتوائه على تركيزات عالية من المركبات الفينولية، مما يمنحه خصائص مضادة للأكسدة تجعله مصدرا واعدا للمواد الملونة الطبيعية[1] .

يتطلب استخدام الملونات الصناعية في المنتجات الغذائية اتخاذ إجراءات وقائية صارمة نظرًا للمخاطر الصحية الموثقة المرتبطة بها. تُظهر الدراسات أن هذه المواد قد تسهم في زيادة خطر الإصابة بأمراض مزمنة، وذلك بسبب تأثيرها السلبي في وظائف الكبد والكلى ولذلك فرضت هيئات تنظيمية عديدة قيوداً تشريعية على استخدام الملونات الصناعية في الصناعات الغذائية. وقد أدى ذلك إلى توجه متزايد من قبل مصنعي الأغذية والباحثين نحو اعتماد بدائل طبيعية. ومن أبرز هذه البدائل: الكاروتينات، والكلوروفيل، والأنثوسيانين ، والبيتاسيانينات، والبيتاكسانثينات، والتي تُستخدم على نطاق واسع كملونات غذائية طبيعية [2]. وقد اعتمد الاتحاد الأوروبي استخدام البيتالين كملون غذائي، حيث تم تصنيفها تحت الرمز E162 [3].

تسعى هذه الدراسة إلى تقدير أثر المتغيرات الرئيسية (مدة الاستخلاص، درجة الحرارة، وتركيز المادة) على كفاءة عملية استخلاص صبغات البيتالين من جذور الشوندر الأحمر باستخدام تقنية الموجات فوق الصوتية المساعدة. كما تهدف إلى تحسين هذه العملية لتحديد الظروف المثلى التي تضمن زيادة إنتاجية الاستخلاص، مع تقييم ومقارنة ثبات الصبغة الناتجة وجودتها الحسية والكيميائية عند التخزين الطازج وبعد فترة حفظ مدتها ستة أشهر.

يحتوي الشوندر الأحمر على البيتالين، الذي يتكون بشكل رئيسي من مركبين: الأول بيتاسيانين betacyanine، ذو اللون الأحمر البنفسجي، والثاني كميات قليلة من بيتاكسانسين betaxanthines، ذو اللون الأصفر [4].

تخضع صبغات البتالين لتغيرات هيكلية حادة نتيجة تعرضها للعوامل البيئية، لاسيما الحرارة والأكسجين. وتؤكد الدراسات الحديثة أن عملية التجفيف الأولي لشرائح الشوندر هي خطوة استراتيجية تهدف إلى خفض النشاط المائي لضمان استقرار الصبغة كيميائياً، بالإضافة إلى دورها في تحطيم المصفوفة الخلوية، مما يرفع من كفاءة عملية الاستخلاص لاحقاً عند تحويل المادة إلى مسحوق ناعم[5].

قام الباحث Gokhale و Lele عام 2014 بدراسة تأثير تجفيف شرائح الشوندر الأحمرباستخدام الهواء الساخن في محتوى الصبغة من البيتالين ونشاطها المضاد للأكسدة. تم إجراء التجفيف ضمن مجال120–50°م، وأظهرت نتائج الدراسة أن التجفيف عند درجات حرارة تتراوح بين–50 65°م يحقق أفضل ثبات للصبغة[6] .

يعود اختلاف محتوى الصبغة من المركبات الفعالة إلى تنوع طرائق استخلاصها. فقد تم استخلاص الصبغة بطرقتين: الأولى باستخدام الماء، والثانية باستخدام حمض الليمون بتركيز 2٪، عند نفس زمن الاستخلاص 1دقيقة وكان تركيز البيتالين في الصبغة المستخلصة 15.75 ،13.79 غ/100مل على التوالي [7].

أما بالنسبة للثبات الحراري للمستخلص المائي، فقد تم قياسه عند درجة حرارة 50°م لمدة 10دقيقة ، حيث بلغ التركيز 21.55 غ/100مل. في حين كان أفضل ثبات حراري للمستخلص الحمضي عند درجة حرارة 40 °م لمدة 5 دقيقة ، حيث بلغ التركيز 15.62 غ/100مل. كما أظهر تركيز صبغة البيتالين المستخلصة مائياً استقراراً أكبر مع زيادة درجة الحرارة ومدة الاستخلاص مقارنةً بالمستخلص الحمضي[7] .

مواد البحث وطرائقه:

-المواد المستخدمة :

أُستُخدمت في هذا البحث المواد الكيميائية التالية: كاشف فولين-سيوكالتيو، حمض الغاليك بتركيز 5g/L ، مركب DPPH (ثنائي فينيل-1-بيكريل هيدرازيل) بتركيز 0.025g/l ، كربونات الصوديوم بتركيز 20٪،الميثانول بنسبة 80٪،

-تجهيز مسحوق الشوندر الأحمر:

تم الحصول على جذور الشوندر الأحمر من السوق المحلي في حمص (شباط 2024)، حيث خضعت للغسل بالماء الجاري لإزالة الشوائب.

عد تجفيف 2Kg من الشوندر الأحمر المقطع شرائح عند درجة حرارة 60 مئوية، يكون الوزن النهائي 200g. يعتمد هذا التقدير على فقدان نتيجة إزالة المحتوى الرطوبي العالي للشوندر الطازج. وقد يختلف الوزن النهائي قليلاً تبعاً لعوامل مثل سمك الشرائح ومدة التجفيف ومدى الجفاف المطلوب. بعد ذلك، قُطعت الجذور إلى شرائح رقيقة (2مم) باستخدام سكين حاد، ثم جُففت في مجفف كهربائي عند55 °م لمدة 24 ساعة. طُحنت الشرائح المجففة لاحقاً باستخدام مطحنة كهربائية للحصول على مسحوق ناعم، والذي خُزن في وعاء زجاجي محكم الإغلاق عند4°م حتى وقت اجراء عملية الاستخلاص و طيلة وقت التخزين .

شملت الدراسة مقارنة كفاءة الاستخلاص بين العينات الطازجة (زمن صفر) وتلك المخزنة لمدة 6 أشهر.

استخلاص الصبغة:

تمت عملية الاستخلاص بإضافة وزن محدد من مسحوق الشوندر الأحمرفي بيشر سعته 500مم للوصول إلى التركيز المستهدف ((2,6,10غ/100مل، ثم وضع في جهاز الموجات فوق الصوتية ذو تردد 40 KHz و طاقة التشغيل150W ثم تم ترشيح العينة المحضرة تحت الظروف التجريبية المحددة.

تصميم التجربة والتحليل الإحصائي:

تم إجراء تصميم التجربة عاملي كامل (Full factorial) بمستوين مع إضافة 3نقاط مركزية باستخدام برنامج Minitab 18

أما بالنسبة لتحديد مستويات العوامل، فقد تم تعيين المجال بين القيمة الدنيا والعليا لكل عامل على النحو التالي: مجال زمن الاستخلاص بين 2 و 60 دقيقة ، و درجة الحرارة بين 20 و 60 °م ، و التركيز بين 2و10 غ/100مل .

الاختبارات:

1- تقدير محتوى البيتاسيانين:

تم تحضير المستخلص ثم تخفيفه بأخذ 10مم منه وتمديده إلى 100مم باستخدام الماء المقطر. بعد ذلك، تم قياس الامتصاصية باستخدام جهاز الطيف الضوئي عند طول موجة نانومتر 535 (حسب طريقة[4]).

حساب محتوى البيتاسيانين(BC):

حُسب باستخدام المعادلة التالية:

$$BC\ mg/100g = [(A \times DF \times MW \times 1000) / (\varepsilon \times l)]$$

حيث:

- A:الامتصاصية عند طول موجة نانومتر 535 .
- DF: عامل التخفيف .
- MW: الوزن الجزيئي للصبغة (550 g/mol).
- ε: ثابت للبتالين (60,000 .L/mol).

- l: طول المسار الضوئي للكيوفيت (1 cm).

2- تقدير مضادات الأكسدة:

2-1- تحضير العينة:

تم تحضير العينات لاختبارين مضادات الأكسدة والفينولات وفقًا للطريقة الموضحة في [7] حيث تم أخذ (1مم) من العينة وتم تكميل الحجم إلى (10مم) باستخدام ميثانول 80%. بعد ذلك، تم خلط المحلول جيدًا لمدة (30دقيقة) ثم طُرِد مركزيًا بسرعة 4000 دورة في الدقيقة لمدة (10دقيقة) باستخدام جهاز طرد مركزي من نوع (SCILOGEX LLC, USA). أخيرًا، تم جمع الطبقة الرائقة وحفظها عند درجة حرارة (-18°م) لحين إجراء التحاليل اللاحقة على العينات.

2-2- تحديد القدرة المضادة للأكسدة بطريقة الجذر الحر DPPH:

تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة وفقاً لطريقة [8] حيث تم إضافة (1.5مم) من محلول DPPH إلى أنبوب اختبار متبوعاً بإضافة (37.5ميكرولتر) من مستخلص العينة المركز. بعد التحريك الجيد، حُفظ الخليط في الظلام لمدة (30دقيقة) عند درجة حرارة الغرفة ليكتمل التفاعل. ثم قيست قيم الامتصاصية عند الطول الموجي (515نانومتر) باستخدام جهاز المطياف الضوئي.

تم حساب النتائج باستخدام معادلة نسبة التثبيط التالية:

$$DPPH\ (\%) = [(A_0 - A) / A_0] \times 100$$

حيث:

- A_0: قيمة امتصاص محلول DPPH
- A: قيمة امتصاص العينة بعد التفاعل

3- تقدير الفينولات الكلية بطريقة فولين سيوكالتيو:

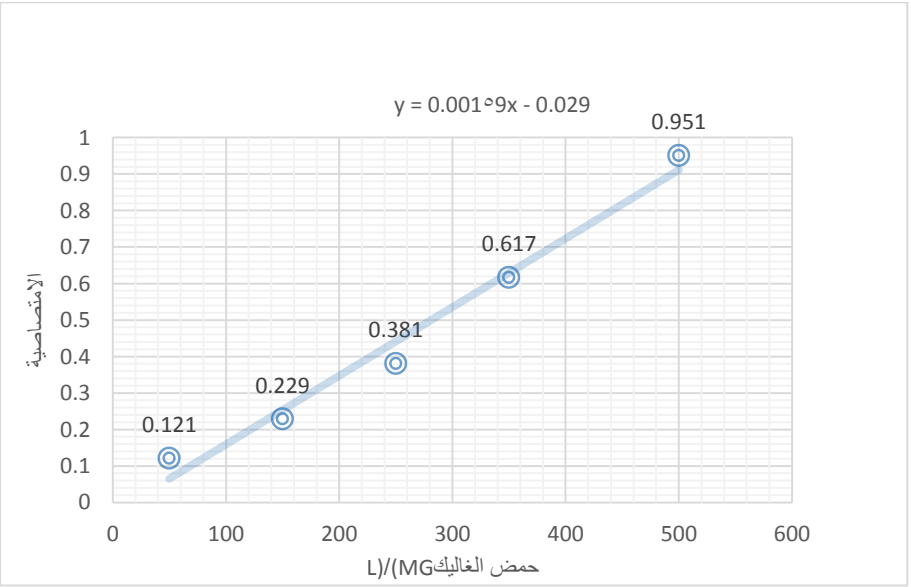
تم تقدير محتوى الفينولات الكلية باستخدام الطريقة الطيفية وفقاً لمرجع [10]. حيث تم إضافة 1580ميكرولتر من الماء المقطر إلى أنبوب اختبار، ثم تمت إضافة 20ميكرولتر من المستخلص

العينة (حمض الغاليك للمعايرة أو العينة الشاهد). بعد ذلك، تمت إضافة ميكرولتر 100من كاشف فولين–سيوكالتو مع التحريك مباشرة، على ألا تزيد مدة التحضين في هذه المرحلة عن 8دقيقة ولا تقل عن 1دقيقة .

ثم تم إضافة 300ميكرولتر من محلول كربونات الصوديوم 20%، وتم تحضين الخليط في الظلام عند درجة حرارة الغرفة لمدة تتراوح بين 1.5h إلى 2h بعد التحريك. ثم تم قياس الامتصاصية عند طول موجة 765نانومتر باستخدام جهاز المطياف.

بالنسبة للسلسلة القياسية، فقد تم تحضير محلول أساسي من حمض الغاليك بتركيز 5غ/ل بإذابة 0.5غ من المادة في 10مم من الإيثانول، ثم تم إكمال الحجم إلى مم 100بالماء المقطر. من هذا المحلول، تم تحضير السلسلة القياسية بتراكيز

(50,150,250,350,500ملغ/ل) بأخذ أحجام1,3,5,7,10مم وتم تخفيف كل منها إلى 100مم بالماء المقطر. بعد قياس امتصاصيتها، تم رسم المنحنى العياري وبناءً عليه، تم حساب تركيز الفينولات الكلية في العينات معبراً عنه بمكافئ حمض الغاليك (ملغ/ل). وجدر بالذكر أن جميع القياسات قد أُجريت بثلاث مكررات لكل عينة. يبين الشكل (1) النتائج السلسة العيارية لحمض الغاليك لتقدير الفينولات الكلية.



شكل (1) السلسة العيارية لحمض الغاليك لتقدير الفينولات الكلية

النتائج والمناقشة:

– نتائج محتوى البيتاسيانين في صبغة الشوندر الأحمر:

تُظهر نتائج تحليل محتوى البيتاسيانين في صبغة الشوندر الأحمر (الجدول 1 والشكل 2) تراوح القيم بين54.254 غ/100مل و 78.252غ/100مل في بداية التخزين.

كما يبين الجدول (2) نتائج التحليل الإحصائي لمحتوى البيتاسيانين ، في حين يوضح الشكلان (3) و (4) سطح استجابة تأثير ظروف التجربة على محتوى البيتاسيانين عند بداية التخزين وبعد ستة أشهر منه على التوالي.

وقد أظهرت النتائج أن تأثير الزمن والتركيز معاً في بداية التخزين كان سالبًا وغير ذو دلالة إحصائية. في المقابل، كان تأثير التركيز منفردًا موجبًا مهم احصائياً عند مستوى ($p < 0.05$) هذا التأثير يتوافق مع نتائج دراسة [11].

أثبتت الدراسة أن ارتفاع درجة الحرارة من20°م إلى60°م يعزز بشكل كبير من استخلاص الصبغة، حيث يؤدي ارتفاع الحرارة إلى زيادة النفاذية ، مما يسهل عملية انتقال مركبات البيتالين. ومع ذلك، فإن التعرض لدرجات حرارة تفوق60 °م لفترات مطولة يؤدي إلى التحلل الحراري لهذه المركبات الحساسة، و هذا يتوافق مع دراسة الباحثين Kadian و زملائه في عام 2013[12]. وفيما يتعلق بالثباتية، أظهر تخزين المسحوق المجفف عند 10°م لمدة ستة أشهر كفاءةً في الحفاظ على مركبات البيتالين الحساسة (البيتاسيانين والبيتاكسانثين)، حيث يحد التخزين البارد بشكل كبير من معدلات تحلل الصبغة، خاصة في العينات المجففة مسبقاً [13]. ومع ذلك، سُجل فقدان طفيف في المحتوى البيتاسيانين بلغ 3–4% خلال التخزين لمدة ستة أشهر، يُعزى إلى استمرار عمليات التحلل الكيميائي البطيئة مثل الأكسدة الذاتية [14].

كذلك تم اشتقاق معادلتين انحداريتين: تمثل المعادلة الأولى (1) محتوى البيتاسيانين في بداية التخزين، بينما تمثل المعادلة الثانية (2) محتوى البيتاسيانين بعد ستة أشهر من التخزين، وقد بلغ معامل التحديد (R^2) للمعادلتين قيمًا أعلى من 95%، مما يشير إلى تماسك نموذجي الانحدار مع البيانات.

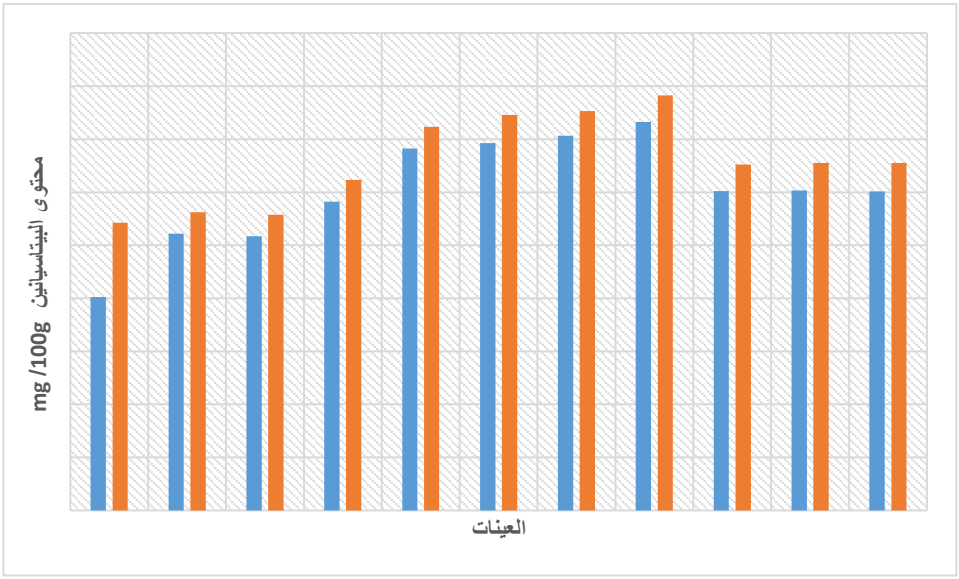
أظهر النموذج الإحصائي الأول عدم وجود تأثير ذو دلالة إحصائية للزمن ($p > 0.05$) على المتغير التابع في المعادلة الأولى، حيث كان معامل الزمن (-0.02951) مقترناً بقيمة p مرتفعة تشير إلى عدم مصداقية إحصائية.

لم يحدث تحول في طبيعة العلاقة من سلبية إلى إيجابية، بل كان التحول من علاقة مخفية بسبب التشويش الإحصائي إلى علاقة واضحة ذات دلالة إحصائية.

جدول (1) نتائج محتوى البيتاسيانينفي صبغة الشوندر الأحمر

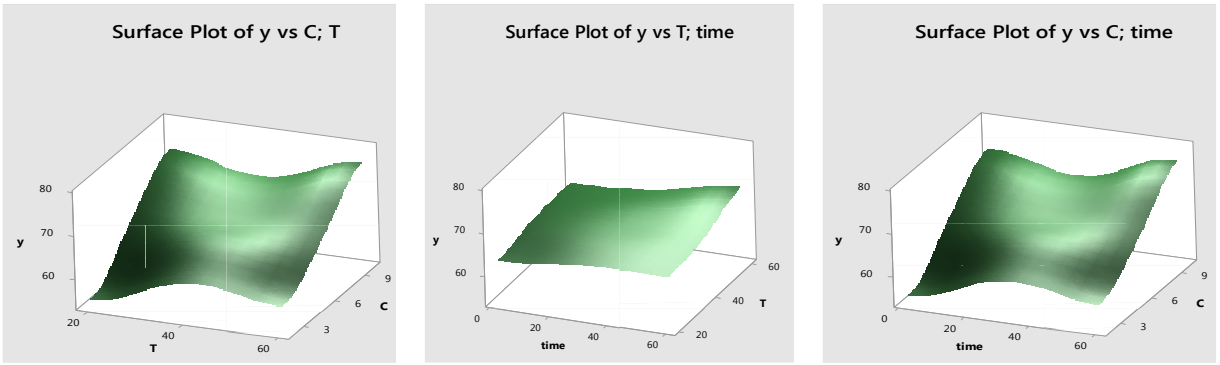
التجربة	Time (دقيقة)	T (°م)	C (غ/100مل)	محتوى البيتاسيانين (mg/100g)	محتوى البيتاسيانين بعد ستة أشهر (mg/100g)
1	2	20	2	54.254	40.254
2	60	20	2	56.210	52.21
3	2	60	2	55.721	51.721
4	60	60	2	62.315	58.235
5	2	20	10	72.321	68.235
6	60	20	10	74.552	69.251
7	2	60	10	75.278	70.658

73.254	78.252	10	60	60	8
60.214	65.251	6	40	31	9
60.354	65.521	6	40	31	10
60.125	65.541	6	40	31	11



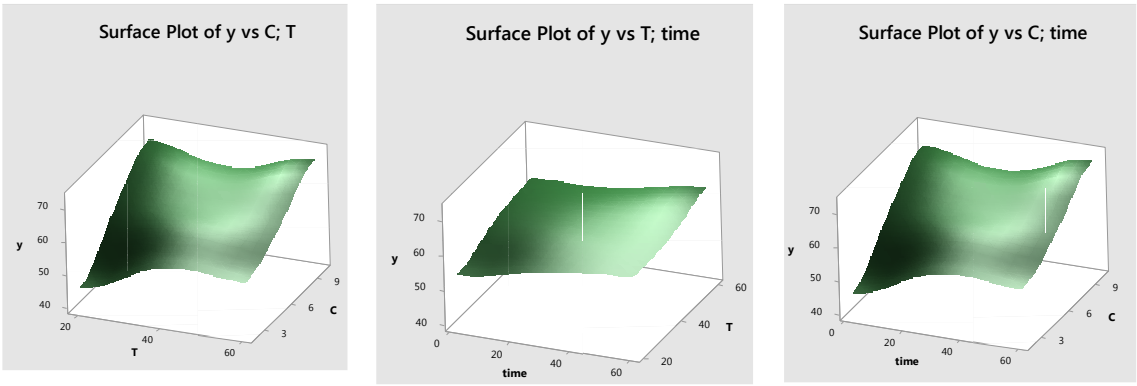
شكل (2) نتائج محتوى البيتاسيانين في صبغة الشوندر الأحمر

$$Y=48.853+ 0.04234\ T- 0.02951\ time+ 2.2264\ C + 0.002419\ T\times time+ 0.00128\ T\times C+ 0.00741\ time\times C - 0.000210\ T\times time\times C - 0.675\ Ct\ Pt \quad (1)$$



شكل3 سطح الاستجابة لدراسة تأثير شروط الاستجابة على محتوى البيتاسيانين لصبغة الشوندر الأحمرفي بداية التخزين

$$Y=25.316+ 0.37348\ T+ 0.29874\ time+ 4.2355\ C- 0.003102\ T\times time - 0.034944\ T\times C- 0.027058\ time\times C + 0.000378\ T\times time\times C - 0.2463\ Ct\ Pt \quad (2)$$



شكل 4 سطح الاستجابة لدراسة تأثير شروط الاستجابة على محتوى بيتاسيانين لصبغة الشوندر الأحمربعد ستة أشهر من التخزين

الجدول (2) التحليل الإحصائي لمحتوى البيتالين

في بداية التخزين	R-sq	R-sq(adj)	بعد ستة أشهر	R-sq	R-sq(adj)
	99.99%	99.96%		100.00%	99.99%
Term	Coef	P-Value	Term	Coef	P-Value
Constant	66.1129	0.000	Constant	60.4773	0.000
T	1.7194	0.001	T	2.7603	0.000
Time	1.7786	0.001	Time	2.9897	0.000
C	8.9879	0.000	C	9.8723	0.000
T×time	0.6726	0.007	T×time	−0.4828	0.007
T×C	−0.4181	0.018	T×C	−1.8572	0.000
time×C	−0.1144	0.184	time×C	−1.3833	0.001
T×time×C	−0.4869	0.014	T×time×C	0.8778	0.002
Ct Pt	−0.675	0.025	Ct Pt	−0.2462	0.088

–نتائج مضادات الأكسدة في صبغة الشوندر الأحمرلأحمر:

يُبين جدول (3) والشكل(5) نتائج اختبار فعالية تثبيط الجذور الحرة (DPPH%) لصبغة الشوندر الأحمر أن القيم تراوحت بين 60.39% و90% بداية التخزين

أما بالنسبة للقيم بعد تخزين لمدة ستة أشهر% 53.52 و% 91.16 بعد ستة أشهر من التخزين. يُظهر الجدول (4) نتائج التحليل الإحصائي لاختبار مضادات الأكسدة DPPH، بينما يوضح الشكلان (6) و(7) سطح استجابة تأثير ظروف التجربة على DPPH عند بداية التخزين وبعد ستة أشهر على التوالي

وفي سياق عملية الاستخلاص، ساهمت درجات الحرارة (40–60) °م في تعزيز كفاءة استخلاص المركبات الفينولية من الخلايا النباتية، مما انعكس إيجابًا على تحسين نتائج اختبار%DPPH هذا يتوافق مع دراسة الباحثFarghaly وزملائه عام 2019 [15] .

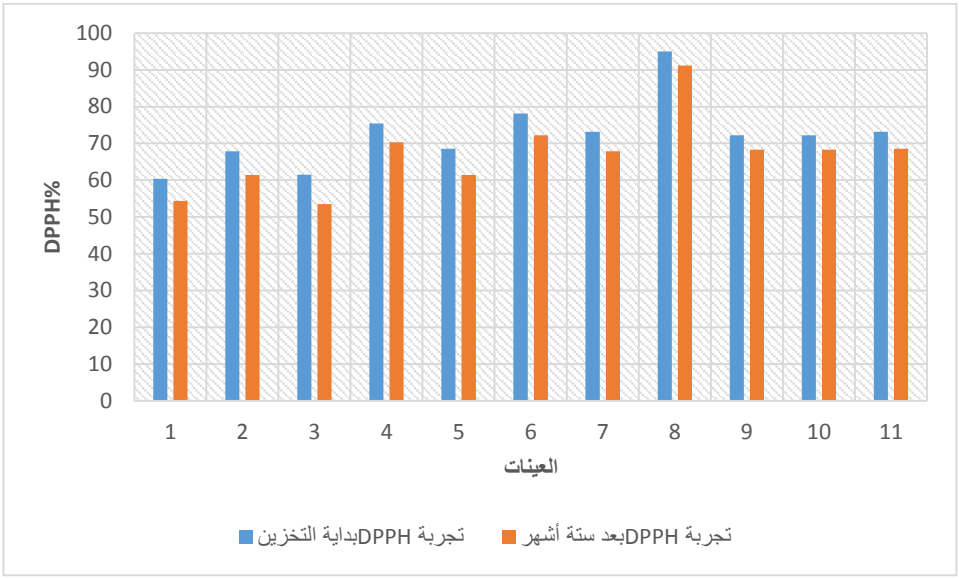
إلا أن الجدول يُبرز أيضًا انخفاضًا ملموسًا في نسبة تثبيط الجذور الحرة (DPPH%) بعد تخزين المستخلص المائي لستة أشهر. ويُرجع هذا التراجع إلى تأثر استقرار المركبات النشطة البيتالين الحساسة للضوء والحرارة والأكسجين مما يؤدي إلى تحللها التدريجي في حال عدم توفر ظروف تخزين مثالية [16].

وقد أظهرت النتائج أن تأثير المتغيرات كان موجبًا وذا دلالة إحصائية عند مستوى ($p < 0.05$). كما تم اشتقاق معادلتي الانحدار: تمثل المعادلة (3) قيم DPPH عند بداية التخزين، بينما تمثل المعادلة (4) DPPH بعد ستة أشهر من التخزين، حيث سجل معامل التحديد (R^2) للمعادلتين قيمًا أعلى من 95%، مما يدل على دقة توافق معادلتي الانحدار مع البيانات."

التجربة	Time)دقيقة (	T (°م)	C (غ/100مل)	%DPPH في بداية التخزين	%DPPH بعد ستة اشهر
1	2	20	2	60.39	54.41
2	60	20	2	67.82	61.46
3	2	60	2	61.49	53.52
4	60	60	2	75.46	70.29
5	2	20	10	68.59	61.46
6	60	20	10	78.14	72.25
7	2	60	10	73.21	67.82
8	60	60	10	95.00	91.16
9	31	40	6	72.21	68.33
10	31	40	6	72.21	68.33
11	31	40	6	72.21	68.59

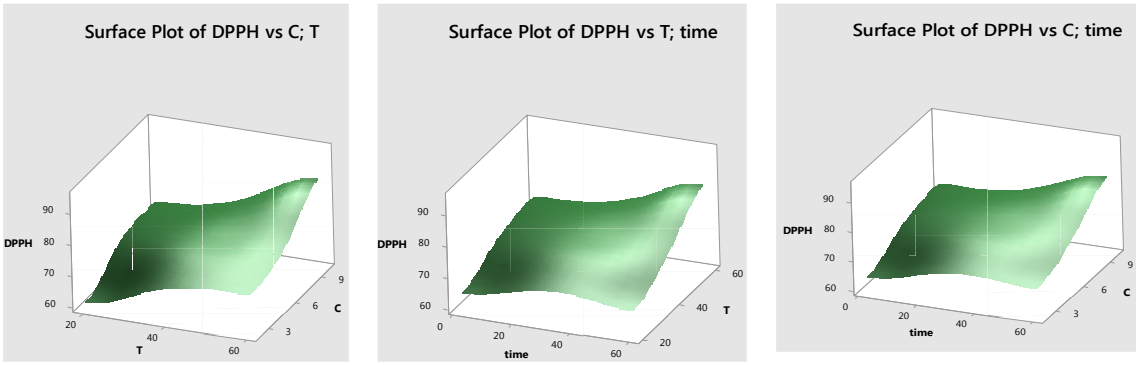
جدول (3) نتائج اختبار فعالية تثبيط الجذور الحرة (DPPH%)

في صبغة الشوندر الأحمر



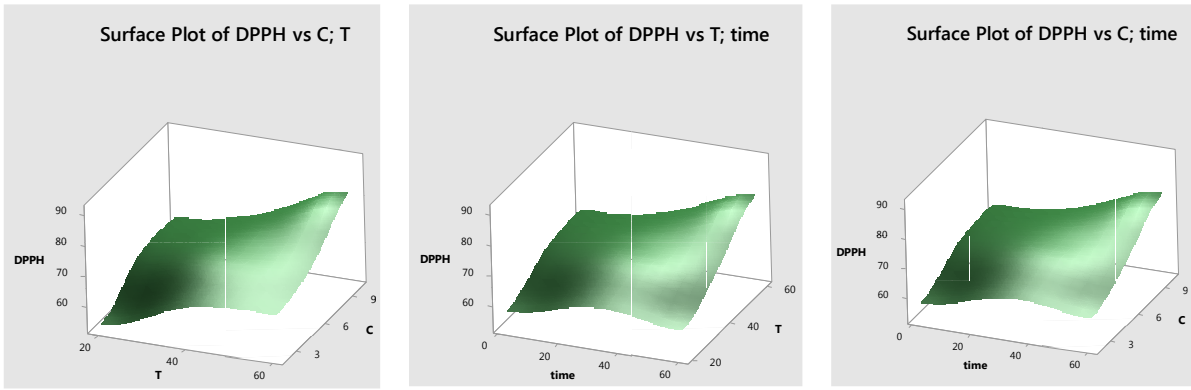
الشكل (5) نتائج اختبار فعالية تثبيط الجذور الحرة (DPPH%) في صبغة الشوندر الأحمر المائي

$$DPPH=54.97+ 0.1681\ T- 0.0403\ time+ 0.890\ C+ 0.002205\ T\times time+ 0.00601\ T\times C + 0.00144\ time\times C + 0.000307\ T\times time\times C + 0.031\ Ct\ Pt \quad (3)$$



شكل 6 سطح الاستجابة لدراسة تأثير شروط الاستجابة على DPPH لصبغة الشوندر الأحمرفي بداية التخزين

$$DPPH=49.839+ 0.14511\ T+ 0.12429\ time+ 0.6223\ C+ 0.003885\ T\times time+ 0.011383\ T\times C+ 0.01258\ time\times C+ 0.000152\ T\times time\times C + 1.870\ Ct\ Pt \quad (4)$$



شكل7سطح الاستجابة لدراسة تأثير شروط الاستجابة على DPPH لصبغة الشوندر الأحمربعد 6 أشهر التخزين

الجدول (4) التحليل الإحصائي لاختبار مضادات الأكسدة

في بداية التخزين	R-sq	R-sq(adj)	بعد ستة أشهر	R-sq	R-sq(adj)
	100.00%	%99.61		100.00%	99.98%
Term	Coef	P-Value	Term	Coef	P-Value
Constant	72.513	0.000	Constant	66.5463	0.000
T	6.592	0.001	T	7.2438	0.000
Time	3.777	0.003	Time	4.1512	0.000
C	6.223	0.001	C	6.6262	0.000
T×time	2.348	0.007	T×time	2.7837	0.000
T×C	1.243	0.026	T×C	1.2887	0.002
time×C	1.592	0.016	time×C	2.1662	0.001
T×time×C	0.713	0.073	T×time×C	0.3538	0.022
Ct Pt	0.031	0.944	Ct Pt	1.870	0.003

-نتائج اختبار الفينولات في صبغة الشوندر الأحمر:

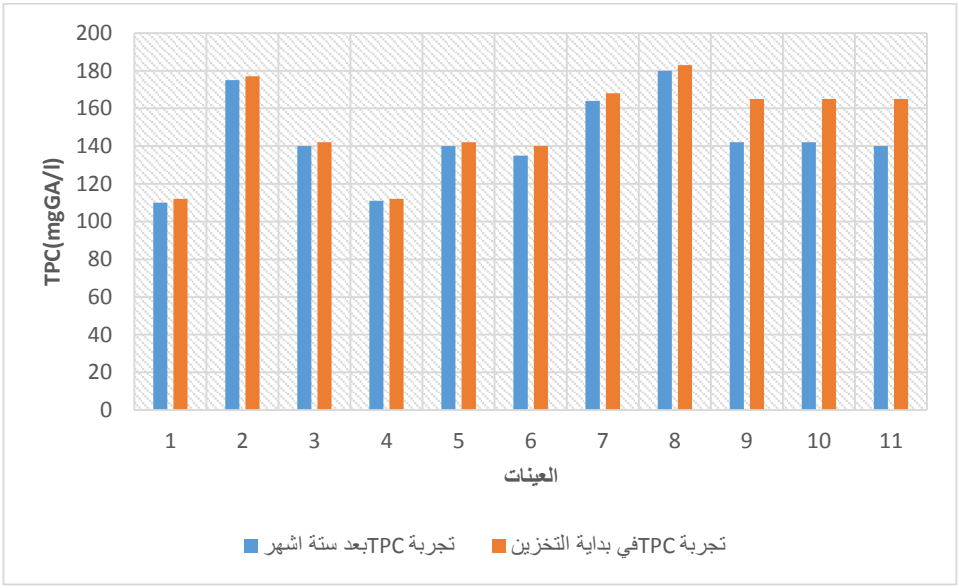
يُبين الجدول (5) و الشكل (8) نتائج اختبار الفينولات في صبغة الشوندر الأحمر المُحَضَّر باستخدام تقنية الاستخلاص بالأمواج فوق الصوتية، على الرغم من كونها تقنية مُحسّنة تُعرف بقدرتها على تعزيز كفاءة استخلاص المركبات الفعّالة عبر تفكيك الجدران الخلوية النباتية وتحسين نفاذية المذيب إلا أن محتوى الفينولات الكلية المُستخلَصة من الشوندر الأحمر بقي منخفضًا نسبيًّا (mgGA/l) (110–183). ويُعزى هذا الانخفاض إلى عدة عوامل، أبرزها استخدام الماء كمذيب رئيسي. فالماء رغم توافقه البيئي وفعاليته مع المركبات القطبية لا يمتلك القدرة على إذابة الفينولات المرتبطة أو غير القطبية، التي تتواجد غالبًا في صورة معقدات داخل الخلايا النباتية. وتشير الدراسات إلى أن معظم الفينولات في الشوندر الأحمرتوجد مرتبطةً بالبروتينات أو السكريات ضمن جدر الخلايا، مما يُصعِّب استخلاصها بالماء وحده حتى مع استخدام الأمواج فوق الصوتية [17]. وبالتالي، فإن استخدام مذيبات عضوية معتدلة القطبية (كالإيثانول أو الميثانول) أو أنظمة استخلاص مزدوجة يُعد أكثر فعاليةً لاستخلاص الفينولات من هذه المواد النباتية.

أكدت دراسة الباحثKujala وزملائه في عام 2000، لم يُظهِر تخزين عينات الشوندر الأحمرلمدة ستة أشهر أي انخفاض ذي دلالة إحصائية في الفينولات الكلية، نظرًا لأن نواتج تحلل البيتانين لا تنتمي بالكامل إلى العائلة الفينولية[14].

يُظهر الجدول (6) نتائج التحليل الإحصائي لـ TPC، بينما يوضح الشكلان (9) و(10) سطح استجابة تأثير ظروف التجربة على TPC عند بداية التخزين وبعد ستة أشهر على التوالي. وأظهرت النتائج أن تأثير المتغيرات كان موجبًا وذا دلالة إحصائية عند مستوى ($p < 0.05$). كما تم اشتقاق معادلتين انحداريتين: تمثل المعادلة (5) TPC عند بداية التخزين، بينما تمثل المعادلة (6) TPC بعد ستة أشهر من التخزين، حيث سجل معامل التحديد (R^2) للمعادلتين قيمًا أعلى من 95%، مما يدل على تماسك نموذج الانحدار مع البيانات.

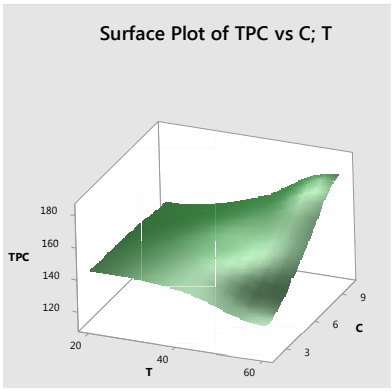
جدول (5) نتائج اختبار الفينولات (TPC) صبغة الشوندر الأحمر

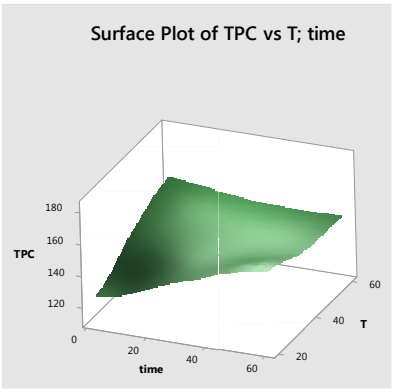
التجربة	Time (دقيقة)	T (°م)	C (غ/100مل)	TPC (mgGA/l)	TPC بعد ستة اشهر (mgGA/l)
1	2	20	2	112	110
2	60	20	2	177	175
3	2	60	2	142	140
4	60	60	2	112	111
5	2	20	10	142	140
6	60	20	10	140	135
7	2	60	10	168	164
8	60	60	10	183	180
9	31	40	6	165	142
10	31	40	6	165	142
11	31	40	6	165	140

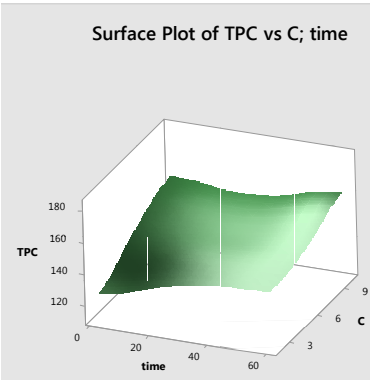


الشكل (8) نتائج اختبار الفينولات (TPC) في صبغة الشوندر الأحمر

$$TPC=84.06+ 2.4698\ time+ 0.8810\ T+ 4.530\ C- 0.05302\ time\times T- 0.26509\ time\times C- 0.02457\ T\times C + 0.006034\ time\times T\times C - 2.667\ Ct\ Pt \quad (5)$$

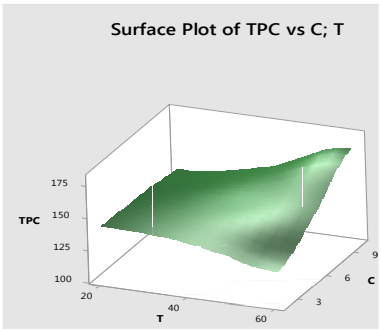


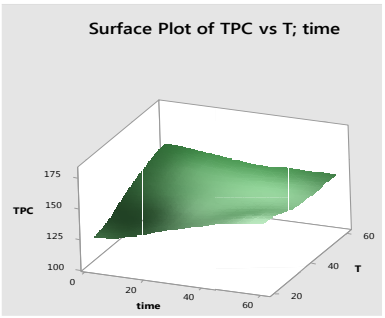


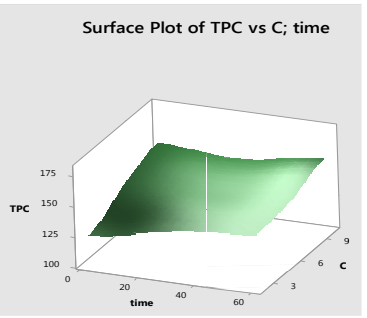


شكل (9) سطح الاستجابة لدراسة تأثير شروط الاستجابة على TPC لصبغة الشوندر الأحمرفي بداية التخزين

$$TPC=81.79+ 2.4806\ time+ 0.8933\ T+ 4.675\ C- 0.05291\ time\times T- 0.27478\ time\times C- 0.03114\ T\times C + 0.006196\ time\times T\times C - 3.042\ Ct\ Pt \quad (6)$$







شكل (10)سطح الاستجابة لدراسة تأثير شروط الاستجابة على TPC لصبغة الشوندر الأحمربعد ستة أشهر من التخزين

الجدول (6) تحليل الإحصائي لاختبار TPC

في بداية التخزين	R-sq 99.95%	R-sq(adj) 99.74%	بعد ستة أشهر	R-sq 99.95%	R-sq(adj) 99.74%
Term	Coef	P-Value	Term	Coef	P-Value
Constant	147.000	0.000	Constant	144.375	0.002
T	6.000	0.005	T	5.875	0.003
Time	4.250	0.009	Time	4.375	0.005
C	11.250	0.001	C	10.375	0.009
T×time	−9.750	0.002	T×time	−9.125	0.002
T×C	−2.750	0.021	T×C	−3.125	0.002
time×C	13.000	0.001	time×C	12.875	0.002

T×time×C	14.000	0.001	T×time×C	14.375	0.017
Ct Pt	−2.667	0.076	Ct Pt	−3.042	0.001

الاستنتاجات:

أثبتت نتائج الدراسة فعالية التصميم التجريبي المطبق في عمليات الاستخلاص المائي، حيث تم التوصل إلى الظروف المثلى التي تحقق أعلى مردود عن°م 60 لمدة 60 دقيقة عند تركيز g 10g/100. كما أظهرت النتائج أن الظروف المثلى للاستخلاص تحققت عند درجة حرارة °م 60 لمدة دقيقة 60، وبتركيز g 10g/100، عند بداية التخزين حيث سُجِّل أعلى تركيز لصبغة البيتالين والفينولات ومضادات الأكسدة (DPPH)، وبلغت القيم غ/100مل78.25 و183mgGA/l و95% على التوالي،وأظهرت الصبغة ثباتاً ملحوظاً حتى بعد تخزين العينات لمدة ستة أشهر عند حرارة 5 °م . وتم استخلاص الصبغة بعد التخزين، حيث سُجّلت أعلى قيم لصبغة البيتالين والفينولات ومضادات الأكسدة (DPPH)، وبلغت القيمغ/100مل73.25 ، و180mgGA/lو91% على التوالي، حيث أثبت النموذج دقته بارتباط بثلاث متغيرات (درجة الحراة و الزمن و التركيز)ارتباطاً وثيقاً بمحتوى البتاليين و مضادات الأكسدة و الفينولات ،كما أثبت النموذج دقته بارتباط ارتفاع درجة الحرارة والتركيز بزيادة كفاءة الاستخلاص، مما انعكس مباشرةً على ارتفاع قيم معادلة تثبيط كسح الجذور الحرة. وعليه، يمكن اعتماد هذه الطريقة كنهج فعال وموثوق لتصميم وتطوير عمليات الاستخلاص بهدف تحقيق أقصى استفادة ممكنة من المواد الفعالة.

التوصيات:

توصي هذه الدراسة بالبناء على نتائجها عبر عدة مسارات. يمكن تعزيز كفاءة الاستخلاص وثبات الصبغة من خلال اختبار تقنيات متقدمة مثل الاستخلاص بمساعدة الميكروويف والاستخلاص بطرق أخرى. كما يُقترح توسيع نطاق التطبيقات العملية بتجربة استخدام المسحوق كمادة ملونة ووظيفية في منتجات غذائية متنوعة كالألبان والمخبوزات، مع مراقبة أدائه خلال فترات الصلاحية. من الضروري أيضاً إجراء توصيف أكثر تعمقاً للمستخلص بتحديد هوية المركبات الفينولية وأنواع صبغات البيتالين بدقة باستخدام تقنيات متطورة مثل الـ HPLC.

المراجع:

1. Chawla, H., Parle, M., Sharma, K., & Yadav, M. (2016). Beetroot: A health promoting functional food. Inventi Rapid: Nutraceuticals, 1(1), 0976-3872.
2. Paciulli, M., Medina-Meza, I. G., Chiavaro, E., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2016). Impact of thermal and high pressure processing on quality parameters of beetroot (Beta vulgaris L.). LWT-Food Science and Technology, 68, 98-104.
3. EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food (ANS). (2015). Scientific Opinion on the re- evaluation of beetroot red (E 162) as a food additive. EFSA Journal, 13(12), 4318.
4. Attia, G. Y., Moussa, M. M., & Sheashea, E. E. D. R. (2013). Characterization of red pigments extracted from red beet (Beta vulgaris, L.) and its potential uses as antioxidant and natural food colorants. Egyptian Journal of Agricultural Research, 91(3), 1095-1110.

5. Salami, M. O., & Afolabi, I. S. (2022). Optimization of the extraction of betalains from beetroot (Beta vulgaris L.) using different drying methods. Journal of Food Measurement and Characterization.
6. Gokhale, S. V., & Lele, S. S. (2014). Betalain content and antioxidant activity of Beta vulgaris: effect of hot air convective drying and storage. Journal of Food Processing and Preservation, 38(1), 585-590.
7. Halwani, A. F., Sindi, H. A., & Jambi, H. A. (2018). Characterization of physical properties of red beet pigments. Journal of Biochemical Technology, 9(2-2018), 16-20.
8. Xu, G., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Ma, Y., & Shi, J. (2008). Juice components and antioxidant capacity of citrus varieties cultivated in China. Food chemistry, 106(2), 545-551.
9. Özkan, G., Sagdic, O., Baydar, N. G., and Baydar, H. (2004). Note: Antioxidant and antibacterial activities of Rosa damascena flower extracts. Food Science and Technology International, 10(4), 277-281.
10. Tsai, T. H., Tsai, T. H., Chien, Y. C., Lee, C. W., and Tsai, P. J. (2008). In vitro antimicrobial activities against cariogenic *streptococci* and their antioxidant capacities: A comparative study of green tea versus different herbs. Food Chemistry, 110(4), 859-864.
11. Swamy, G.J.; Sengmithra, A. Chandrasekar, V. (2014). Response surface modeling and process optimization of aqueous extraction of natural pigments from Beta vulgaris using box-behnken design of experiments. Dyes and Pigments،111:64-74.
12. Kadian, S.S. and Sharma, A. (2013). Stability and application of crude beetroot extracts in different food products. International journal of Biology, Pharmacy and Allied Sciences (IJBPAS), 2(3):693-698.
13. Gaurav Pandey, G. P., Vivek Pandey, V. P., Pandey, P. R., & George Thomas, G. T. (2018). Effect of extraction solvent temperature on betalain content, phenolic content, antioxidant activity and stability of beetroot (Beta vulgaris L.) powder under different storage conditions .
14. Kujala, T. S., Loponen, J. M., Klika, K. D., & Pihlaja, K. (2000). Phenolics and betacyanins in red beetroot (Beta vulgaris) root:

Distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(11), 5338-5342.

15. Farghaly, M. A., Soliman, A. H., & Abdellatif, A. S. (2019). Evaluation of Red Pigment Extracted from Beetroot. Current Science International, 8(04), 930-941.
16. Postružnik, V., Stajčić, S., Borjan, D., Ćetković, G., Knez, Ž Knez Marevci, M., & Vulić, J. (2024). Impact of Storage conditions on Stability of Bioactive compounds and Bioactivity of Beetroot Extract and Encapsulates. Processes, 12(7), 1345 .
17. chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. Ultrasonics sonochemistry, 34, 540-560.