الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العالي

جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي

كلية التكنولوجيا

مذكرة نهاية الدراسة لنيل شهادة

ماستر أكاديمي

ميدان : التكنولوجيا

شعبة: هندسة الطرائق

تخصص: هندسة كيميائية

إعداد الطالبات:

بن عمر إلهام

بيكي أحلام

السويسي إيمان

الموضوع

المساهمة في تحسين إستخلاص الكيراتين من صوف الغنم بمساعدة البرنامج الإحصائي Design-Expert

نوقشت يوم: 5/ 2020/10 أمام اللجنة المكونة من:

د. لعويني صلاح الدين	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	رئيسا
د. ربيعي عبد الكريم	أستاذ محاضر أ	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	مناقشا
د. بن الصغير البشير	أستاذ مؤقت	جامعة الشهيد حمه لخضر – الوادي	مؤطرا

السنة الجامعية:2020/2019

بإسم الله الرحمن الرحيم

الإهـــداء

أهدي ثمرة هذا العمل الى من أفتخر بأبوته و أحمل إسمه أبي العزيز الكريم و إلى من علمتني الصبر والكفاح إلى حبيبتي أمي الغالية حفضها لله أطال في عمرها.

إلى أخوتي وأخواتي، و كل الأهل والأقارب، إلى جميع الأصدقاء، إلى كل من عرفته من قريب أو بعيد،

إلى من رفعوا رايات العلم والتعليم أساتذتي الأفاضل،

و إلى كل من سقط سهوا من قلمي ولم يسقط من قلبي.

أحلام

الحمد لله نحمده و نشكره، وصلي الله وسلم على رسولنا محمد صل الله عليه وسلم، و بعد يشرفنا أن نهدي ثمرة جهدي إلى من كان نورا في ظلامي و قدوتي في كياني أمي و أبي حفظهما الله و أطال في عمرهما.

و إلى أختي و الإخوة إلى الصديقات و إلى كل من ساعدنا من قريب أو بعيد في إتمام هذا العمل إلى كل من وسعهم القلب و لم تسعهم صفحتنا.

إيمان

أهدي هذا العمل المتواضع إلى أمي الغالية وأبي الحنون و إلى من كانوا يضيئون لي الطريق ويساندوني إخوتي

إلهام

شكر وعرفان

الحمد والشكر الله الذي رزقنا العقل وحسن التوكل عليه سبحانه وتعالى

وألهمنا الصبر ووفقنا إلى إتمام هذا العمل، والصلاة السلام على نبيه محمد و على آله وصحبه أجمعين

وقبل أن نمضي نقدم أسمى آيات الشكر والإمتنان والتقدير والمحبة إلى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة وسهروا من أجل ارتقائنا وفي مقدمتهم الدكتور الفاضل **بن الصغير البشير** الذي أشرف على إنجاز هذا العمل، وكان نورا يضيء الظلمة التي تقف أحيانا في طريقينا، و نشكره على مجهوداته ونصائحه القيمة وتوجيهاته السديدة التي كانت عونا لي في إتمام هذا العمل كله فله منا فائق الشكر والتقدير.

كما أشكر أعضاء اللجنة المناقشة لقبولها للمناقشة هذا العمل بداية برئيسها والمناقشين.

كما أتوجه بأرقى عبارات الشكر والعرفان إلى كل من تقدم لنا بالدعم وخاصة طاقم الأساتذة و أخص بالذكر: **الدكتور لعويني صلاح الدين**، و **الدكتور ربيعي عبد الكريم**، و المخبري **علي طلبية**، و إلى مسؤولي المخابر بكلية التكنولوجيا: " **رجاء القروي**، و **الدكتورة برة جميلة**".

الرمز	المعنى
α-hélice	شكل حلزوني
pH	درجة الحموضة
RSM	سطح الإستجابة
Y	الإستجابة المقاسة
x_i ،x_j	المستوى المعين للمتغير
a_0؛ a_i؛ a_{ij}؛ a_{ii}	معاملات النموذج الرياضي
MLR	الإنحدار الخطي المتعدد
b	ثابت الإنحدار الخطي
a_n …. a_1	ميل الإنحدار
R	معامل الإرتباط الخطي
R^2	مربع معامل الإرتباط الخطي (معامل التحديد)
R^2_{adj}	معامل التحديد المضبوط
F –valeur	قيمة فيشر
P-valeur	قيمة الإحتمالية
TOSS	التفاوت الكلي
RSS	التفاوت المفسر
ESS	التفاوت غير المفسر
ANOVA	تحليل التباين
SS	مجموع المربعات
SS_{res}	مجموع مربعات التباين المتبقي
SS_{reg}	تباين الإنحدار
SS_{exp}	تباين التجريبي النقي
SS_{aju}	تعديل الإنحراف
F	معامل فيشر
P	معامل الإحتمال
MC	متوسط مجموع المربعات أو التباين
DF	درجات الحرية

الإنحراف المعياري	SD
معامل تضخم التباين	VIF
ثنائي وثلاثي الأبعاد	2Det3D
مطيافية الأشعة تحت الحمراء	IR-ATR
Attenuated total reflectance	ATR
وحدة سنتمتر $^{-1}$	cm^{-1}
تركيز الثيوريا	X_1
تركيز بيروكبريتيت الصوديوم	x_1
درجة الحرارة	X_2؛x_2
الوقت	X_3؛x_3
المردود	R
درجة الحرية	DL
خطأ في النموذج	Lack of Fit
الخطأ الناتج عن المجرب	Pure Error

الشكل		الصفحة
الجـــزء النظـــري		
الفصل الأول: عموميات حول الكيراتين		
الشكل(I-1)	مصادر الكيراتين	6
الشكل(I-2)	الصوف الخام	7
الشكل(I-3)	رسم تخطيطي للمكونات المورفولوجية للألياف الصوفية الدقيقة	8
الشكل(I-4)	التمثيل التخطيطي للهيكل ثلاثي الأبعاد لبروتين الكيراتين	9
الشكل(I-5)	مخطط بياني يوضح الترابط بين الجزيئات الكيراتين	11
الفصل الثاني: التصاميم التجريبية		
الشكل(II-1)	رسم تخطيطي لعملية تجريبية	24
الشكل(II-2)	مجال تغير العامل	25
الشكل(II- 3)	ترتيب النقاط التجريبية في مجال الدراسة	26
الشكل(II-4)	رسم توضيحي لتأثير المتغير	27
الشكل(II-5)	منحى تأثير بين متغيرين	27
الشكل(II-6)	الإجراء العامل تنفيذ خطة التجربة	29
الشكل(II-7)	خطة مركبة لعاملين	31
الشكل(II-8)	خريطة بوكس بينكين ثلاثة عوامل	32
الفصل الثالث: التحليل الإحصائي للنمذجة		
الشكل(III-1)	خط الإنحدار	40
الشكل(III-2)	تمثيل بياني ثنائي و ثلاثي الأبعاد بين المتغيرات و الإستجابة	46
الجزء العملي		
الفصل الرابع: المواد والطرق		
الشكل(IV-1)	الصوف الخام	52
الشكل(IV-2)	الصوف بعد التنقية	53
الشكل(IV-3)	يوضح عملية الإستخلاص	54
الشكل(IV-4)	مخطط يوضح طريقة العمل لإستخلاص الكيراتين	55
الشكل(IV-5)	طريقة وضع العينات السائلة في مكان وضع العينة لجهاز ATR	59
الشكل (IV-6)	طريقة وضع العينات الصلبة في جهازATR	59
الشكل(IV-7)	طريقة ضغط الذراع على العينات في جهاز ATR	59

الشكل(8-IV)	طريقة وضع العينة في جهازIR-ATR	60
الشكل (9-IV)	يوضح منحنى الأشعة تحت الحمراء للكيراتين	61
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
الشكل (1-V)	مقارنة بين القيم التجريبية والمتوقعة لـ R_1 %	68
الشكل (2-V)	يبين تأثير تركيز الثيوريا ودرجة الحرارة على المردود%	72
الشكل(3-V)	يبين تأثير تركيز الثيوريا و وقت التفاعل على المردود%	74
الشكل (4-V)	يبين تأثير تركيز درجة الحرارة و وقت التفاعل على المردود %	76
الشكل (5-V)	الظروف المثلى المتوقعة بطريقة RSM	77
الشكل (6-V)	مقارنة بين القيم التجريبية والمتوقعة لـ R_2 %	81
الشكل (7-V)	يبين تأثير تركيز بيروكبريتيت الصوديوم ودرجة الحرارة على المردود%	85
الشكل(8-V)	يبين تأثير تركيز بيروكبريتيت الصوديوم و وقت التفاعل على المردود%	87
الشكل (9-V)	يبين تأثير درجة الحرارة و وقت التفاعل على المردود %	89
الشكل(10-V)	الظروف المثلى المتوقعة بطريقة RSM	90
الشكل(11-V)	يوضح طريقة الكشف عن بروتين الكيراتين	91

الجدول		الصفحة
الجـــزء النظـــــري		
الفصل الأول: عموميات حول الكيراتين		
الجدول(1-I)	يوضح مقادير المكونات المورفولوجية المختلفة في الصوف الناعم	9
الجدول(2-I)	يوضح بعض التطبيقات الصناعية للكيراتين	16
الفصل الثاني: التصاميم التجريبية		
الجدول(1-II)	البرنامج للتصاميم التجريبية	34
الفصل الثالث: التحليل الإحصائي للنمذجة		
الجدول(1-III)	تحليل ANOVA لتوضيح ملاءمة النموذج	**44**
الجزء العملي		
الفصل الرابع: المواد والطرق		
الجدول(1-IV)	يوضح المواد المستعملة في خطوات العمل	51
الفصل الخامس: النتائج والمناقشة		
الجدول(1-V)	المتغيرات و مجال الدراسة لخطة Box-Behnken	66
الجدول(2-V)	خطة Box-Behnken مع الإستجابة التجريبية (الوحدة غير مشفرة)	67
الجدول(3-V)	يبين القيم التجريبية و المتوقعة للمردود لكل تجربة	69
الجدول(4-V)	يبين تحليل التباين لإستجابة المردود%	70
الجدول(5-V)	المتغيرات و مجال الدراسة لخطة Box-Behnken	78
الجدول(6-V)	خطة Box-Behnken مع الإستجابة التجريبية (الوحدة غير مشفرة)	79
الجدول(7-V)	يبين القيم التجريبية و المتوقعة للمردود لكل تجربة	82
الجدول(8-V)	يبين تحليل التباين لإستجابة المردود%	83
الجدول(9-V)	مقارنة النتائج	93

العنوان	الصفحة
الإهداء	
شكر وعرفان	
قائمة الرموز	
قائمة الأشكال	
قائمة الجداول	
الفهرس	
المقدمة العامة	1
الجـــزء النظـــري	
الفصـــل الأول: عموميات حول الكيراتين	
مقدمة	4
1.I. تعريف الكيراتين	4
2.I. مصادر الكيراتين	5
I .1.2. الشعر	5
I .2.2. الريش	5
I .3.2. الصوف	6
I .3. أنواع الكيراتين	10
I .1.3. α- كيراتين	10
I.2.3. β- كيراتين	10
I .4. الخصائص الفيزيائية و الكيميائية	12
I .4. 1. التركيبة الكيميائية	12
I.2.4. الذوبانية	13
I.3.4. درجة الحموضة pH	13
I.4.4. الوزن الجزيئي	13
I.5. تطبيقاته	14
I.1.5. معالجة نفايات الكيراتين	14
I.2.5. المنظفات	14
I.3.5. صناعة النسيج	15
I.4.5. تطبيقات مستحضرات التجميل	15
مراجع الفصل الأول	17
الفصـــــل الثاني: التصاميم التجريبية	
مقدمة	21
1.II. لمحة تاريخية	21
2.II. مبدأ عمل التصميم التجريبي	22
3.II. تعريف التصميم التجريبي	22

4.II. أهداف التصاميم التجريبية	23
5.II. المفاهيم الأساسية للتصاميم التجريبية	23
1.5.II. المتغيرات	23
2.5.II.مفهوم الفضاء التجريبي	25
3.5.II. تأثير المتغيرات عن الإستجابة	26
4.5.II. التأثير بين المتغيرات	27
6.II.منهجية التصاميم التجريبية	28
7.II.أنواع التصميمات التجريبية	30
8. II.خطط طريقة سطح الإستجابة(RSM)	30
1.8.II.الخطط المركبة	30
2.8 .II.خطط بوكس بينكين	31
9.II.النموذج رياضي	32
10.II. أنواع برنامج الحاسوب التي تهتم بتصاميم التجربية	33
مراجع الفصل الثاني	35
الفصـــــل الثالث: التحليل الإحصائي للنمذجة	
مقدمة	38
1.III. التحليل الإحصائي للبيانات	38
1.1.III. الطرق الإحصائية	38
2.1 III. تحليل الإنحدار Analyse de régression	38
2.III. معاملات التحليل الإحصائي	40
1.2.III . معامل الإرتباط Coefficient de corrélation (**R**)	40
2.2.III. معامل التحديد Coefficient de détermination ($\mathbf{R^2}$)	41
3.2.III. معامل التحديد المعدل (R^2_{adj})	41
4.2.III. إختبار F –Teste	42
5.2.III. قيمة الإحتمالية P-valeur	42
6.2.III. التفاوت الكلي Total Variation (TOSS)	42
7. 2. III. التباين Analyse de la variance (ANOVA)	43
1.7.2.III.متوسط المربعات Carrés moyens (MS)	44
2.7.2.III. معامل تضخم التباين Carrés moyens (VIF)	45
3.III. التحقق من صحة النموذج	45
4.III.التمثيل البياني	45
مراجع الفصل الثالث	48
الجـــزء العمـــــلي	
IV.المواد و الأجهزة المستعملة	51
1.IV.المـــــــــــــواد	51
2.IV. الأجهزة المستعملة	51

3.IV. خطوات العمل	52
1.3.IV. تجميع و تحضير الصوف	52
2.3.IV. غسل الصوف	52
3.3.IV.إزالة الدهون و الشوائب	52
4.3.IV. إستخلاص الكيراتين	53
4.IV.حساب المردود	56
5.IV.البرنامج المستخدم	56
6.IV. التحليل بمطيافية الأشعة تحت الحمراءART-FTIR	57
1.6.IV. مناطق الأشعة تحت الحمراء	57
2.6.IV. التحليل النوعي	58
Attenuated total reflectance (ATR). 7 .IV	58
1. 7.IV. تعريف	58
2.7.IV. تحليل العينات	58
8.IV. طريقة العمل	60
9 .IV. توصيف الكيراتين بواسطة الأشعة تحت الحمراء	61
مراجع الفصل الرابع	63
الفصـــــل الخامس: النتائج والمناقشة	
V .النتائج والمناقشة	65
1.V. نتائج المرحلة الأولى	65
1.1.V. إعداد التصميم التجريبي	65
2.1.V. الأهداف	65
3.1.V. تحديد المتغيرات و مجال الدراسة	66
4.1.V. نمذجة الإستجابة	67
5.1.V. النتائج الإحصائية وتفسيرها	67
1.5.1.V. النموذج الرياضي	67
2.5.1.V. تحليل التباين	69
3.5.1.V. تحسين الإستجابة	71
4.5.1.V. القيم المثلى المتوقعة للمتغيرات لنموذج التنبؤ	77
2.V. نتائج المرحلة الثانية	78
1.2.V. إعداد التصميم التجريبي	78
2.2.V. الأهداف	78
3.2.V. تحديد المتغيرات و مجال الدراسة	78
4.2.V. نمذجة الإستجابة	79
5.2.V. النتائج الإحصائية وتفسيرها	80
1.5.2.V. النموذج الرياضي	80
2.5.2.V. تحليل التباين	82

3.5.2.V. تحسين الإستجابة	85
4.5.2.V. القيم المثلى المتوقعة للمتغيرات لنموذج التنبؤ	90
3.IV. الكشف عن بروتين الكيراتين	91
4.IV.مقارنة النتائج	91
مراجع الفصل الخامس	94
الخاتمة	
الملاحق	

المقدمة العامة

لقد أصبحت النفايات تشّكل عبئا ثقيلا على المجتمعات من ناحية الإقتصادية و الصحية والبيئية لما تشّكله من مخاطر نتيجة الأساليب البدائية التي لا زالت سائدة حاليا في التعامل مع هذه النفايات في معظم البلدان المتخّلفة. إّلا أّن للنفايات قيمة تجارية وصناعية كبيرة لو تّمت معالجتها بطرق سليمة من أجل الإستفادة منها في عدة قطاعات، كما هو الحال بالنسبة للنفايات الحيوانية مثل الشعر والجلود والقرون والحوافر وريش الطيور.

في هذا الصدد إرتأينا في هذه الدراسة أن نساهم في تحسين إستخلاص الكيراتين من الصوف لإستخدامه كمصدرا مفيدًا لتكوين منتجات جديدة لها قيمة تجارية مهمة في الكثير من المجالات، و يكمن هدف هذا العمل في إيجاد الطريقة المثلى لإستخلاص الكيراتين من صوف الغنم كيميائيا، و هذه الأخيرة تتركز على متابعة عدة متغيرات فيزيوكيميائية، و من ناحية أخرى تم إستعمال التصاميم الإحصائية التجريبية التي يمكن من خلالها دراسة الظروف التجريبية المختلفة لهذه المتغيرات في نفس الوقت و بعدد تجارب أقل.

تم إستخدام منهجية التصاميم التجريبية الإحصائية، وهي عبارة من مجموعة متجانسة من الأدوات وطرق الجبر الإحصائية التي تهدف إلى إنشاء وتحليل العلاقات القائمة بين الكميات المدروسة (الإستجابات) ومصادر تباينها، ويتم إستخدام طريقة سطح إستجابة RSM للسماح بدراسة العديد من المتغيرات ذات الأهمية في وقت واحد والتي تهدف إلى الحصول على ظروف مثلى لتحسين مردود إستخلاص الكيراتين.

إعتمدنا في بحثنا على دراسة أربع متغيرات للوصول إلى إستجابة جيدة (تركيز الثيوريا، تركيز بيروكبريتيت الصوديوم، درجة الحرارة و وقت التفاعل) التي لها تأثير على عملية إستخراج الكيراتين.

فكان من الأجدر تلخيص كل هذا وتثمينه في هذه المذكرة وقد تمت هذه العملية وفق مراحل قسمت إلى خمسة فصول تضمنت العناوين التالية:

الجزء النظري ويضم :

- **الفصل الأول:** عموميات حول الكيراتين.
- **الفصل الثاني:** التصاميم التجريبية.
- **الفصل الثالث:** التحليل الإحصائي للنمذجة.

الجزء العملي ويضم :

- **الفصل الرابع:** المواد و الطرق.
- **الفصل الخامس** :النتائج والمناقشة .

ختاما و في الخاتمة العامة نعرض مدى تحقيق الأهداف المرجوة من هذه الدراسة، و الظروف المثلى لإستخلاص الكيراتين من صوف الغنم و هذا من خلال النتائج المتحصل عليها.

الجـــزء النظـــري

الفصل الأول:
عموميات حول الكيراتين

مقدمة:

أدت الحاجة المتزايدة الى المواد البيولوجية المستدامة و إستغلالها في عدة مجالات بغية التخلص من بعض مخلفات و نفايات بسبب تزايد المخاوف البيئية مما أدى إلى إستخدام المنتجات الثانوية الطبيعية المتاحة كبديل، و يتم الحصول على هذه المنتجات الثانوية من مصادر حيوانية مختلفة، و تم إستخدامها مؤخرا لأغراض مفيدة مثل: صناعة العقاقير والأدوية ومستحضرات التجميل والبلاستيك الحيوي.

ويعد الكيراتين من بين أكثر البروتينات الهيكلية وفرة خاصة في الحيوانات جنبًا إلى جنب مع الكولاجين، كما يعد الكيراتين من بين أكثر البروتينات تواجدا في جسم الزواحف والطيور والثدييات، خصوصا على مستوى الأظافر، والصوف والريش والحوافر .....إلخ.

وفي الوقت الحاضر، تسبب الكتلة الحيوية للنفايات الغنية بالكيراتين الناتجة عن بقايا الدواجن والأغنام تهديدًا خطيرًا للبيئة والكائنات الحية، وبهذا نحن بحاجة إلى معرفة تقنيات وأساليب مختلفة لإستخراج وإستخدام الكيراتين، في هذا الفصل وصفنا بإختصار مختلف مصادر وخصائص وهياكل الكيراتين.

1.I. تعريف الكيراتين:

ترجع كلمة كيراتين إلى اللغة اليونانية "كيرا" والتي تعني "قرن" وهو عبارة عن مركبات بوليمرية طبيعية تظهر على شكل بنية ذات سلسلة من البولي ببتيد.

ويعد الكيراتين واحدة من عائلة البروتينات الهيكلية الموجودة في الطبيعة، كما أنه عبارة عن بروتينات ليفية غير قابلة للذوبان في درجة الحرارة العالية، نظرًا لخصائصها الهيكلية لإحتوائها على العديد من روابط ثاني كبريتيد سيستين [1].

2.I. مصادر الكيراتين:

تستمد الكتلة الحيوية للكيراتين من الكائنات الحية أو من بعض أجزاء جسمها سواء قبل أم بعد موتها، و قد أصبحت الثروة الحيوانية تشكل مصدرا رئيسيا للكيراتين متمثلة في: الجلد و ملحقاته كذلك الريش و الصوف و الأظافر و الحوافر و الشعر البشري كما تعتبر الطبقة القرنية من أغنى مصادر الكيراتين كما هو مبين في **الشكل (I-1)**[2]:

ومن أهم المصادر الكيراتين:

1.2.I. الشعر:

يتواجد الشعر بشكل مباشر في فروة الرأس و الذي يحتوي حوالي 300 إلى 500 شعرة لكل 2 سم، و يتراوح قطر الشعر بين0.05 - 0.12 ملم على حسب العمر، وجذع الشعرة كاملا يحتوي على (65-95%) من بروتين الكيراتين، كذلك يتكون الشعر من: الكربون نسبته 50.65 % و أكسجين 20.85 % و نيتروجين 17.14 % و الهيدروجين 6.36 % و كبريتيد 5 % والتي هيكلها على شكل حلزوني (α-hélice) [3].

2.2.I. الريش:

يتكون الريش من 91% من الكيراتين على عكس الكيراتين الموجود في البشرة و الشعر التي يتشكل بشكل طبيعي من α –الكيراتين، و الكيراتين الريش من β–الكيراتين، و الكيراتين الموجود في الريش عبارة عن بولي ببتيد يحتوي على حوالي 100 حمض أميني[4].

I.3.2. الصوف :

يعد الصوف من عائلة الألياف البروتينية، ويبلغ قطره من 20 إلى 80 ميكرومتر وطوله يصل إلى 20 سم [5, 6].

الشكل (I-1) : مصادر الكيراتين.

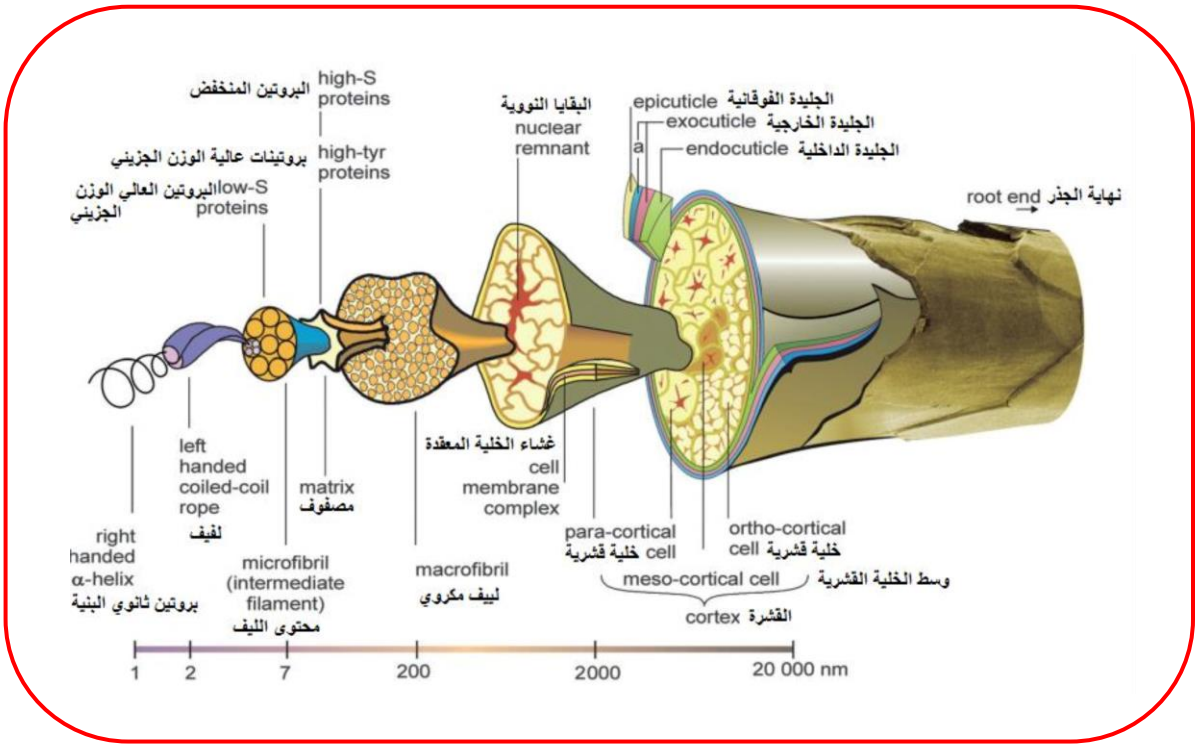
كما يمكن أن يحتوي الصوف الخام (**الشكل(I-2)**) على نسبة تتراوح من 25 إلى 70% من كتلة الشوائب، وتتكون هذه الأخيرة من شحوم الصوف والسوائل والأوساخ والأعشاب العالقة به، كما أن شحوم الصوف عبارة عن مزيج معقد من الأسترات الدهنية المختلفة و الأحماض الدهنية، كذلك يحتوي على بعض الأملاح مثل البوتاسيوم، بالإضافة إلى كبريتات والفوسفات والمواد النيتروجينية، ويتم إزالة الشحوم والسوائل والأوساخ عن طريق التنظيف، لهذا فإن الصوف الذي تمت مناقشته في هذا الفصل هو المادة الليفية التي تمت إزالة الملوثات السطحية منها[7-10].

الشكل(I-2): الصوف الخام.

التركيبة المرفولوجية للصوف:

يحتوي الصوف النظيف على بروتين نقي، ويتكون من بنية نسيجية مكونة من ثلاث مكونات مورفولوجية رئيسية هي: البشرة، وغشاء الخلية والقشرة كما يوضح **الشكل(I-3)**، وتتكون البشرة من غلاف رفيع لألياف الصوف "خلايا بشرة متداخلة سطحيا"، والتي تتكون من خلايا قشرية على شكل مغزلي موجهة نحو محور الألياف أنظر **الشكل(I-3)** ، و قد أشارت الإحصائيات إلى أن الصوف يحتوي على حوالي 170 نوعًا مختلفًا من جزيئات البولي ببتيدية، و لا يتم توزيع هذه جزيئات بشكل موحد في جميع أنحاء الألياف و على الرغم من التصنيف الكلي للصوف ككيراتين، إلا أن بروتينات الصوف المكونة لأنواعه تسمى "الكيراتينية" أو "غير الكيراتينية" ، وفقًا لمحتواها من سيستين.

تحتوي البروتينات غير الكيراتينية على نسبة أقل من سيستين ولديها إنخفاض نسبياً للروابط المتقاطعة من ثنائي الكبريتيد مقارنة مع بروتينات الكيراتين[11].



الشكل(I-3): رسم تخطيطي للمكونات المورفولوجية للألياف الصوفية الدقيقة.

ويحتوي الصوف الناعم على نوعين من الخلايا: خلايا البشرة الخارجية وخلايا القشرة الداخلية، تشكل هذه معًا الجزء الأكبر من كتلة الصوف النظيف كما يوضح **الجدول (I-1)** مبينا نسب بشرة القشرة والألياف الناعمة، بالإضافة إلى كميات المكونات النسيجية الثانوية الأخرى للألياف، وقد تحتوي ألياف الكيراتين الخشنة (عادة بأقطار أكبر من 35 ميكرون) على نوع ثالث من خلايا التي تسمى النخاع المركزية، وتكون مرتبة إما بشكل مستمر أو بشكل متقطع على طول محور الألياف ومربوطة بين الخلايا القشرية، و في كثير من الأحيان بطريقة تشبه السلم، كما نجد مساحات هوائية بين خلايا النخاع[12].

الجدول(I-1): يوضح مقادير المكونات المورفولوجية المختلفة في الصوف الناعم[12].

المكونات	البروتينات الكيراتينية	البروتينات الغير كيراتينية	المواد الغير بروتينية
البشرة(أ) الجلد الخارجي الجلد الداخلي	6.4%	3.6%	
القشرة(ب) شعيرات المتوسطة السلسلة (جزيئية) البقايا النووية ومواد الليفية	35.6% 38.5%	12.6%	
غشاء الخلية المعقدة(ج) بروتينات قابلة لذوبان من غشاء الخلية المعقدة		1.0%	
الأغشية المقاومة(د) ليبيدات	%1.5		%0.8
المجموع	**%82.0**	**%17.2**	**0.8%**

(أ) مجموع الخلية 10%

(ب) القشرة الكلية 86.7%

(ج) مجموع غشاء الخلية المعقدة 3.3%

(د) بما فيها النواة 0.1 %

I.3. أنواع الكيراتين:

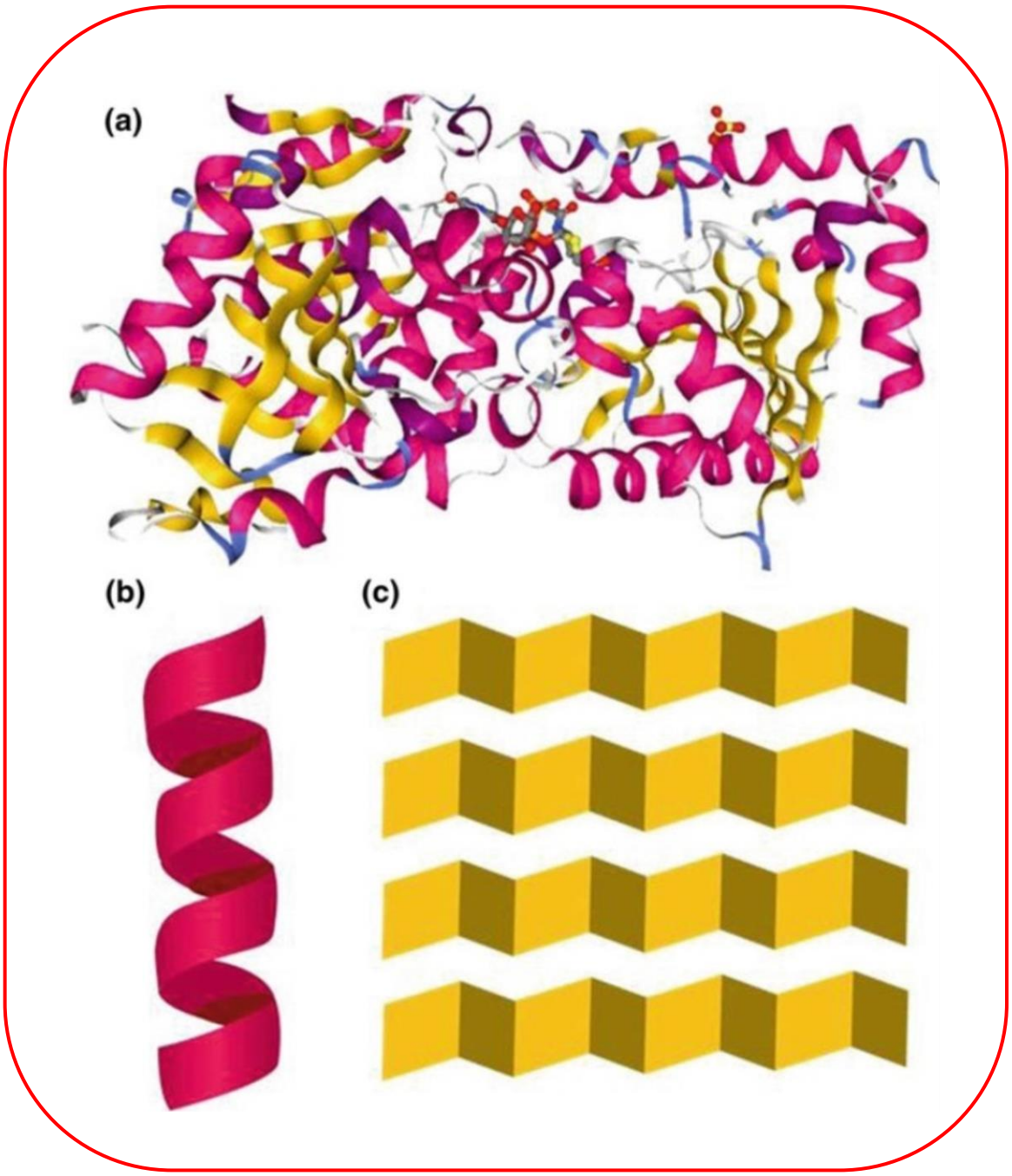
يصنف الكيراتين إلى نوعين α–كيراتين و β–كيراتين إستنادا إلى الترابط الهيدروجيني من بنية البروتين الأساسي، حيث تم العثور علي الهيكل الجزيئي وأنواع الخيوط المرتبطة بها في مجموعة واسعة من أشكال الكيراتين، غالبية الكيراتين في الثدييات يكون من نوع (α)، بينما ريش الطيور والمنقار و الزواحف تحتوي بشكل رئيسي من النوع (β)، في حين أن شكل و وظيفة بروتينات الكيراتين تختلف بين الصنفين، كما أن تكوين البيبتيد وترتيبها يعدان من المتغيرات أيضًا [13, 14].

I.3.1. α– كيراتين:

يتم التعرف α–الكيراتين من خلال شكله الحلزوني حيث يبلغ طوله حوالي 35 وحدة تقريبا والذي يتم تنظيمه في شكل هرمي في الشعيرات و الخيوط المتوسطة، حيث يرتبط على شكل حلزوني ألفا بشكل ألفا آخر بطريقة غير متوازية كما هو موضح في **الشكل (I-4)**، مكونًا لفائف ملفوفة إستقر ترابطها عن طريق التفاعلات الأيونية لنسبة عالية نسبيا من بقايا سيستين [15].

I.3.2. β– كيراتين:

β–الكيراتين هو عبارة جزيء لـ α –كيراتين، ويتكون التنظيم الهيكلي لهذا الشكل من الكيراتين في شكل β يمتد الهيكل لسلسلة البولي ببتيد بشكل متعرج، بحث يتم ترتيب عديد الببتيدات المتعرجة جنبًا إلى جنب لتشكيل بنية تشبه سلسلة من الطيات ((تسمى ورقة β مطوية)، **الشكل (I-4)**)، و يمكن أن تكون روابط الهيدروجين إما داخل السلسلة أو فيما بين روابط الببتيد في سلاسل بولي ببتيد المجاورة [16].

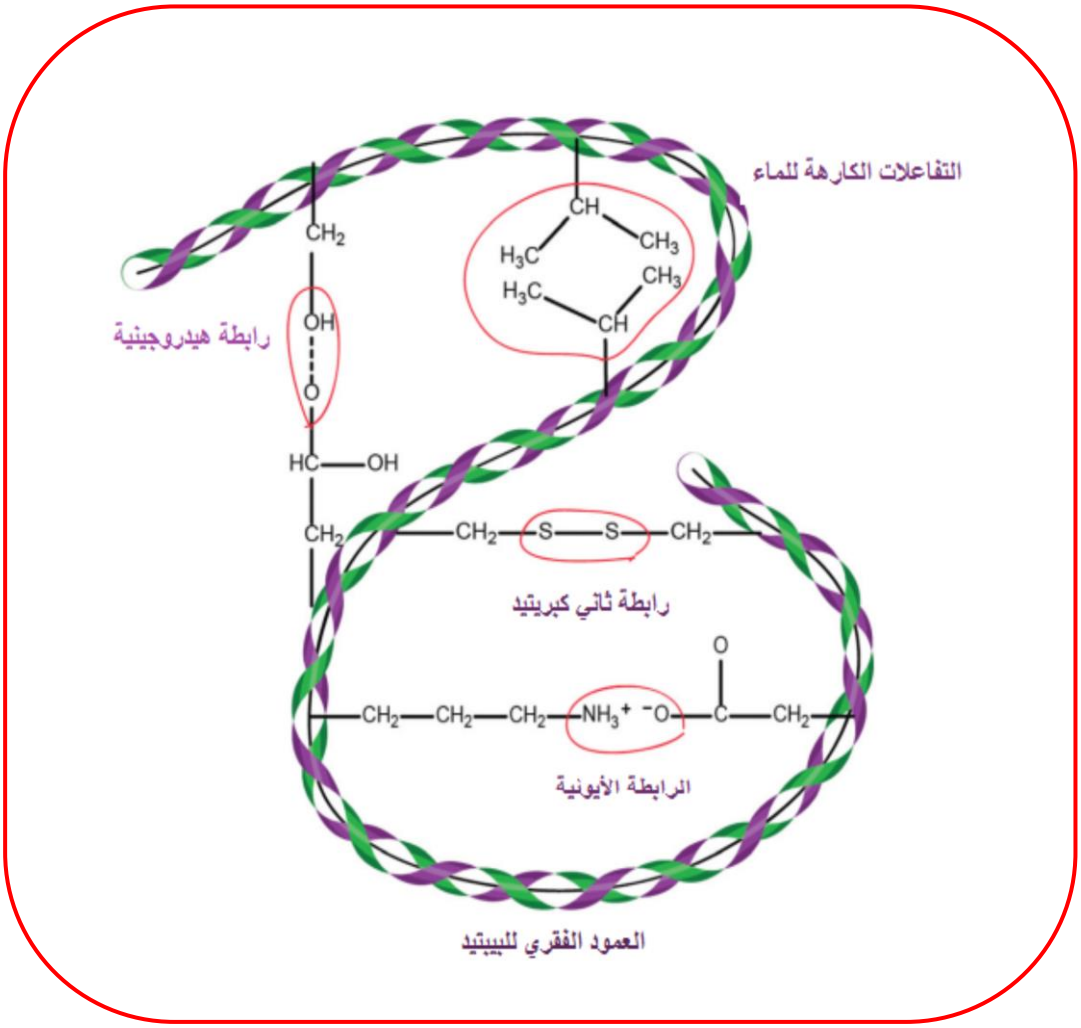


الشكل (I-4): **(a)** التمثيل التخطيطي للهيكل ثلاثي الأبعاد لبروتين الكيراتين،**(b)** يتم تشكيل α-كيراتين عن طريق إلتواء سلاسل البولي ببتيد بطريقة العمودية،**(c)** β-كيراتين هيكل هو نتيجة لأقصى امتداد و تمديد سلاسل ببتيد.

I.4. الخصائص الفيزيائية والكيميائية:

I.4.1. التركيبة الكيميائية:

يتكون الصوف من حوالي 95 % كيراتين و الدهون بنسبة 0.1 % والمعادن تقريبا 0.5% كما أن الكيراتين عبارة عن بولي ببتيد مكون من الأحماض الأمينية المختلفة التي تحتوي الترابط بين الجزيئي للحمض الأميني ثاني كبريتيد سيستين والمترابط داخل الجزيئات للأحماض القطبية وغير القطبية كما هو موضح **بالشكل (I-5)** [17-20].



الشكل (I-5): مخطط بياني يوضح الترابط بين الجزيئات الكيراتين.

I.4.2. الذوبانية:

تعد بروتينات الصوف مقاومة لغالبية العوامل الكيميائية والفيزيائية، و هذه البروتينات غير قابلة للذوبان في الماء و تحمل أحماض ضعيفة، كما يحتوي الكيراتين على نسبة عالية من السيستين الذي له دور مهم في تحديد الخصائص الفيزيائية و الكيميائية للكيراتين، بالمقارنة مع معظم البروتينات يتمتع الكيراتين بمستوى عالي من الإستقرار و إنخفاض القابلية للذوبان بسبب الروابط المتقاطعة داخل السلسلة عبر الحلقات ثاني كبريتيد السيستين، ومع ذلك فإن الهيدروجين والروابط الكارهة للماء والأيونية تلعب أيضًا دورًا مؤثرًا في ذوبانية الكيراتين[21].

I.4.3. درجة الحموضة pH:

إن وجود الرابطة الأيونية يعتمد على درجة الحموضة، ويكون الأعلى من حيث درجة الحموضة التي تساوي 4.9 هذا عندما يكون البروتين على شكل أيون مزدوج، بينما في ظل الظروف الحمضية أو القاعدية العالية تكون الروابط الأيونية في أدنى مستوى لها، كما ترتبط الرابطة الأيونية بين الأيونات الكربوكسيلية و كاتيونات الأمونيوم، لذلك يتم تقليل هذه الروابط بواسطة بروتون المجموعة الكربوكسيلية عند درجة الحموضة المنخفضة و إزالة البروتون في المجموعة الأمينية عند درجة الحموضة العالية لتمنح روابط ثاني كبريتيد الكيراتين[22].

I.4.4. الوزن الجزيئي:

يحتوي كيراتين الصوف على (4-8 %) من الكبريت، في حين أن الكيراتين وجد في أنسجة البشرة يحتوي على 2% من الكبريت و (50-75 %) من الرطوبة للحصول على الكيراتين، كما يمكن تصنيف الكيراتين الذي يتم الحصول عليه من ألياف الصوف إلى عدة مجموعات مختلفة للوزن الجزيئي: نسبة منخفضة من الكبريت مع الوزن الجزيئي من 45–60 كيلو دالتون و جزء يحتوي على نسبة عالية من

الكبريت مع الوزن الجزيئي من 11–28 كيلو دالتون و ذات المحتوى العالي من الجليسين أو التيروزين مع الوزن الجزيئي العالي من 9–12 كيلو دالتون[22, 23].

5.I. تطبيقاته:

في الآونة الأخيرة إزداد الإهتمام بشكل كبير على الكيراتين بسبب تطبيقاته العديدة كما هي موضح في **الجدول(I-2)**[24]:

1.5.I. معالجة نفايات الكيراتين:

يتم إنتاج كميات كبيرة من الكيراتين الموجودة في ريش والأظافر و الشعر وحافر و القرن، التي تعتبر نفايات صلبة يصعب تحللها بيولوجيا، وهناك عدة طرق تقليدية لمعالجة نفايات الريش مثل الحرق و الدفن و التحلل القلوي، وهذه طرق ليست صديقة للبيئة، بل أنها تتطلب العمل كبير و تكلفة باهظة، وبالتالي أصبحت جزء من إستراتيجية إدارة النفايات الصلبة لأن إعادة تدوير هذه النفايات أمر صعب، و يعتبر التحلل المائي لنفايات الكيراتين بواسطة الكائنات الحية الدقيقة بديلاً للتكنولوجيا الحيوية لإعادة تدويرها وتثمينها و قد إستخدمت إستراتيجيات التنشيط الحيوي لمعالجة نفايات الدواجن، لذلك يمكن أن تكون الكيراتينات أداة لا غنى عنها في صناعة مواد حيوية جديدة لمعالجة النفايات الحيوانية بالدرجة الأولى و بطريقة صديقة للبيئة [25].

2.5.I. المنظفات:

يعد البروتياز من المكونات الأساسية في صناعة المنظفات، و هو عبارة عن أنزيم محلل للكيراتين نظرًا لقدرته على تحطيم الكيراتين ليكون أكثر قابلية للذوبان وقدرته على التحمل مثل الثبات عند درجة حرارة ودرجة الحموضة عالية، و يتم إستخدام الكيراتين في تركيبة المنظفات لإزالة الأوساخ التي تصادف في الغالب في الملابس، مثل أطقم القمصان التي قد يكون من الصعب إزالتها بواسطة البروتياز الشائع.

I.3.5. صناعة النسيج:

يمكن إستغلال الكيراتين في صناعات النسيج بسبب قدرته على تعديل الحرير والصوف و يذكر أن الكيراتين و البروتياز يستعمل لمنع الإنكماش وزيادة خاصية مقاومة التلبيد للصوف، وقد تم إستخدام عدة إنزيمات وتم إستعمالها بالتتابع لتحسين قابلية التبلل وخاصية مقاومة التلبيد لأقمشة الصوف[26, 27].

I.4.5. مستحضرات التجميل:

الكيراتين له عدة خصائص تستعمل في إنتاج العديدة من مستحضرات التجميل منها منتجات العناية بالشعر لتحسين من خصائصه مثل الوزن والمرونة والسطوع والنعومة والقوة و أيضا يستخدم في منتجات حلاقة الشعر وتفتيح البشرة و إزالة حب الشباب والندبات وذلك من خلال تجديد أنسجة الجلد، كما يستخدم الكيراتين بدلا من حمض الساليسيليك لإزالة الطبقة السميكة من الجلد الميت الموجود في أصابع القدم و اليد[28].

الجدول(I-2): يوضح بعض التطبيقات الصناعية للكيراتين[28].

المصدر	تطبيقات الصناعية
شعر الإنسان	الإستخدام الطبي
الريش	تطوير ألياف البروتين والسقالات ثنائية وثلاثية الأبعاد لهندسة الأنسجة
ريش الدجاج	الألياف المتجددة
	الجسيمات الدقيقة والجسيمات النانوية للتطبيقات الصيدلانية
	كمكمل غذائي
	معالجة الجلود
	خيوط النسيج
	صناعة المنظفات
	السماد الحيوي
	هيدروجيل الكيراتين
	إنتاج الورق
	البلاستيك الحيوي

خلاصة الفصل:

تم في هذا الفصل التطرق إلى عموميات حول الكيراتين الناتج عن المصادر الحيوانية مثل الصوف والريش...إلخ، التي تعتبر من أهم المصادر الطبيعية لإستخراج الكيراتين، كما أنه في الآونة الأخيرة إزداد الإهتمام به بشكل كبير بسبب تطبيقاته العديدة في عدة مجالات.

المراجع:

[1] I. A. Adelere and A. Lateef, " Degradation of Keratin Biomass by Different Microorganisms ",In Keratin as a Protein Biopolymer. Springer, Cham, 2019.

[2] J.-D. J. M. Kim, "Purification and characterization of a keratinase from a feather-degrading fungus, Aspergillus flavus Strain K-03", vol. 35, no. 4, pp. 219-225, 2007.

[3] A. M. Mitu, "Damage assessment of human hair by electrophoretical analysis of hair proteins", Bibliothek der RWTH Aachen, 2004.

[4] J. W. Kock, "Physical and mechanical properties of chicken feather materials", Georgia Institute of Technology, 2006.

[5] S. Decker, "Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry Sixth Edition-Electronic Release: By Alex Kleemann et al", ed: Taylor & Francis, 1999.

[6] F. Perineau and A. Gaset, "Etude de l'adsorption de surfactants ioniques et non ioniques sur de la matière végétale carbonisée", Canadian Journal of Chemistry, vol. 59, no. 1, pp. 19-26, 1981.

[7] D. J. N. Teasdale, "Wool Testing and Marketing Handbook, Department of Wool and Animal Science, University of New South Wales, Kensington", 1988.

[8] K. Motiuk, "Wool wax acids: a review", Journal of the American Oil Chemists' Society, vol. 56, no. 2, pp. 91-97, 1979.

[9] R. G. Stewart, "Wool scouring and allied technology Christchurch", New Zealand: Wool Research Organisation of New Zealand, 1983.

[10] J. Christoe and B. Bateup, "Wool Science Review", 1987.

[11] S. Sharma and A. Kumar, "Keratin as a Protein Biopolymer", Springer, 2019.

[12] D. M. Lewis and J. A. Rippon, "The coloration of wool and other keratin fibres", John Wiley & Sons, 2013.

[13] B. Wang, W. Yang, J .McKittrick, and M. A. Meyers, "Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration", Progress in Materials Science, vol. 76, pp. 229-318, 2016.

[14] I. Sinkiewicz, H. Staroszczyk, and A. Śliwińsk, "Solubilization of keratins and functional properties of their isolates and hydrolysates", Journal of Food Biochemistry, vol. 42, no. 2, p. e12494, 2018.

[15] C-C. Chou and M. J. Buehler, "Structure and mechanical properties of human trichocyte keratin intermediate filament protein", Biomacromolecules, vol. 13, no. 11, pp. 3522-3532, 2012.

[16] T. Lingham-Soliar, R. H. Bonser, and J. Wesley-Smith, "Selective biodegradation of keratin matrix in feather rachis reveals classic bioengineering", Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, vol. 277, no. 1685, pp. 1161-1.2010 ,168

[17] S. I. N. Ayutthaya, S. Tanpichai, J. Wootthikanokkhan, and t. Environment, "Keratin extracted from chicken feather waste: extraction, preparation, and structural characterization of the keratin and keratin/biopolymer films and electrospuns", Journal of Polymers and the Environment, vol. 23, no. 4, pp. 506-516, 2015.

[18] A. Aluigi et al., "Keratins extracted from Merino wool and Brown Alpaca fibres as potential fillers for PLLA-based biocomposites", Materials Science and Engineering: C, vol. 49, no. 18, pp. 6257-6269, 2014.

[19] A. Shavandi, T. H. Silva, A. A. Bekhit, and A. E.-D. A. Bekhit, "Keratin: dissolution, extraction and biomedical application", Biomaterials science, vol. 5, no. 9, pp. 1699-1735, 2017.

[20] A. J. Poole, R. E. Lyons, J. S. Church, "Dissolving feather keratin using sodium sulfide for bio-polymer applications", Journal of Polymers and the Environment, vol. 19, no. 4, pp. 995-1004, 2011.

[21] T. Korniłłowicz-Kowalska and J. Bohacz, "Biodegradation of keratin waste: theory and practical aspects", Waste management, vol. 31, no. 8, pp. 1689-1701, 2011.

[22] C. Tonin ,A. Aluigi, A. Varesano, and C. Vineis, "Keratin-based nanofibres", nanofibers. InTech, pp. 139-158, 2010.

[23] R. Fraser, T. MacRae, and G. E. Rogers, "Keratins: their composition, structure and biosynthesis", 1972.

[24] I. A. Adelere and A. Lateef, "Keratinases: emerging trends in production and applications as novel multifunctional biocatalysts", Kuwait Journal of Science, vol. 43, no. 3, 2016.

[25] M. Călin et al., "Degradation of keratin substrates by keratinolytic fungi", Electronic Journal of Biotechnology, vol. 28, pp. 101-112, 2017.

[26] J. Zhang, B. Li, X. Liao, G. Du, J. Chen, "Expression and characterization of extreme alkaline, oxidation-resistant keratinase from Bacillus licheniformis in recombinant Bacillus subtilis WB600 expression system and its application in wool fiber processing", World Journal of Microbiology and Biotechnology, vol. 29, no. 5, pp. 825-832, 2013.

[27] P. Wang, Q. Wang, L. Cui, M. Gao, X. Fan, "The combined use of cutinase, keratinase and protease treatments for wool bio-antifelting,", Fibers and Polymers, vol. 12, no. 6, p. 760, 2011.

[28] R. Gupta, P. Ramnani, "Microbial keratinases and their prospective applications: an overview", Applied microbiology and biotechnology, vol. 70, no. 1, p. 21, 2006.

الفصل الثاني:
التصاميم التجريبية

مقدمة:

تم إستخدام مصطلح التحسين بشكل شائع في الكيمياء كوسيلة لإكتشاف الظروف التي تطبق فيها إجراء ينتج عنه أفضل إستجابة ممكنة، ويتم إجراء التحسين في الكيمياء عموما من خلال مراقبة تأثير عامل واحد في وقت واحد على الإستجابة التجريبية؛ بينما يتم تغيير معامل واحدة فقط مع الإحتفاظ بالمتغيرات الأخرى في مستوى ثابت والعيب الرئيسي أنه لا يشمل تأثير بين المتغيرات التي تتم دراستها؛ نتيجة لذلك لا تصور هذه التقنية التأثيرات الكاملة للمتغيرات على الإستجابة، والعيب الآخر لتحسين عامل واحد هو زيادة في عدد من التجارب اللازمة لإجراء البحث، مما يؤدي إلى زيادة الوقت والنفقات وكذلك زيادة في إستهلاك الكواشف والمواد وللتغلب على هذه المشكلة، تم إجراء تحسين الإجراءات التحليلية بإستخدام تقنيات إحصائية متعددة المتغيرات، من بين أكثر الأساليب المتعددة المتغيرات المستخدمة في التحسين التحليلي طريقة منهجية سطح الإستجابة (RSM).

1.II. لمحة تاريخية:

طرق الإختبار تقوم على إستخدام التصاميم التجريبية، وقد إشتهر العالم رونالد فيشر من سنة 1890 إلى 1962 لتطويره مبدأ تحليل التباين في علم الإحصاء، مهتمًا بالتقنيات التجريبية بعد توظيفه في عام 1919 في "محطة روتهامستد التجريبية" و نجد في أعمال فيشر مفاهيم التكرار و التأثيرات الرئيسية على خطط القطع المقسمة [1]؛ وتم أخذ أفكار فيشر من قبل المتخصصين في العلوم الزراعية في عام 1931، وقد إنضم فيشر إلى روتهامستيد من قبل فرانك ييتس مما أنتج العديد من تطورات الجديدة فيما يتعلق بالتصميم الإحصائي و العوامل وكذلك مفاهيم التصميم التجريبية والمتغيرات [2] ؛ ومنذ 1935-1940 أصبحت هذه المفاهيم التجريبية تطبق بشكل أساسي في القطاع الزراعي وفي القطاع الصناعي؛ ثم ظهرت مفاهيم جديدة مثل خطط Plackett و Burman ومفهوم أسطح الإستجابة[3] .

2.II. مبدأ عمل التصميم التجريبي:

تتكون تقنية التصميمات التجريبية من تغيير مستويات عامل واحد أو أكثر في وقت واحد (وهي متغيرات منفصلة أو مستمرة) مع كل إختبار (تجربة أو إستجابة)؛ كما سيمكن ذلك من تقليل عدد التجارب التي يجب القيام بها مع زيادة عدد العوامل التي سيتم دراستها، وذلك بإكتشاف التأثيرات بين العوامل والعوامل المثلى فيما يتعلق بالإستجابة التي تسمح بنمذجة سهلة للنتائج؛ وبالتالي فإن النقطة الحساسة في إستخدام التصميم التجريبي ستكون تقليل عدد التجارب التي يجب إجراؤها دون التضحية بدقة النتائج قدر الإمكان، كما يوجد عدد كبير من التصاميم المختلفة كل حسب خصائصه، ليجعل من الممكن حل بعض المشاكل المعينة، ومع ذلك يمكننا تقسيم التصميمات التجريبية إلى فئتين رئيسيتين [4]:

- تصميم لدراسة (تقدير ومقارنة) تأثير المتغيرات.
- تصميم لضبط المتغيرات من أجل الوصول إلى القيمة المثلى.

3.II. تعريف التصميم التجريبي:

تتيح التصاميم التجريبية تنظيم أفضل الإختبارات المصاحبة للبحث العلمي أو الدراسات الصناعية، وهي قابلة للتطبيق على العديد من التخصصات وعلى جميع الصناعات منذ اللحظة التي يبحث فيها الباحث عن الرابط الموجود بين الإستجابة Y و المتغيرات X_i، التي نعبر عليها بدالة التالية:

$$Y = F(X_i)$$

وهذا للحصول على أقصى قدر من المعلومات مع الحد الأدنى من التجارب، و للقيام بذلك يجب عليك إتباع القواعد الرياضية؛ هناك العديد من التصاميم التجريبية التي تم تكييفها مع جميع الحالات التي واجهها المجرب، وسيتم الإشارة إلى المبادئ الأساسية للتصاميم التجريبية وتعتمد على مفهومين أساسيين هما مفهوم الفضاء التجريبي و النمذجة الرياضية [5].

II.4. أهداف التصاميم التجريبية:

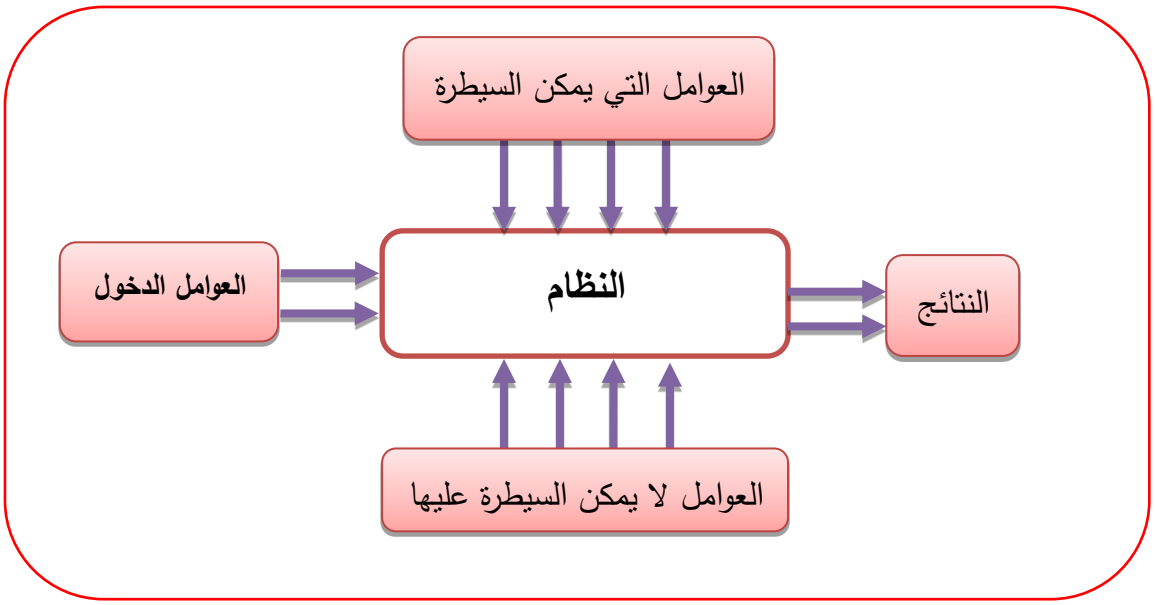
تسمح لك التصاميم التجريبية بالعثور على المتغيرات المثلى مع تقليل عدد التجارب اللازمة لتحديده، و أهدافها هي:

- تحسين الجودة.
- إنخفاض التكاليف.
- البحث عن المتغيرات.
- دراسة عدد كبير من المتغيرات.
- كشف التأثير بين هذه المتغيرات.
- تحديد المجالات أو القيم المثلى لمجال الدراسة.
- الحصول على نموذج تجريبي لهذه الظاهرة.
- والحصول على دقة أفضل.

II.5. المفاهيم الأساسية للتصاميم التجريبية:

II.5.1. المتغيرات:

العوامل أو المتغيرات المدروسة في التصميم التجريبي هي بالطبع عوامل المدخلة للنظام المعتمد في التصميم والعامل عبارة عن كمية يمكن قياسها في أغلب الأحيان أو تحديد طبيعتها، لكنها يمكن أن تكون كمية نوعية لا قيمة عددية[6].



الشكل (II-1): رسم تخطيطي لعملية تجريبية.

من بين العوامل التي سنميزها في **الشكل (II-1)**:

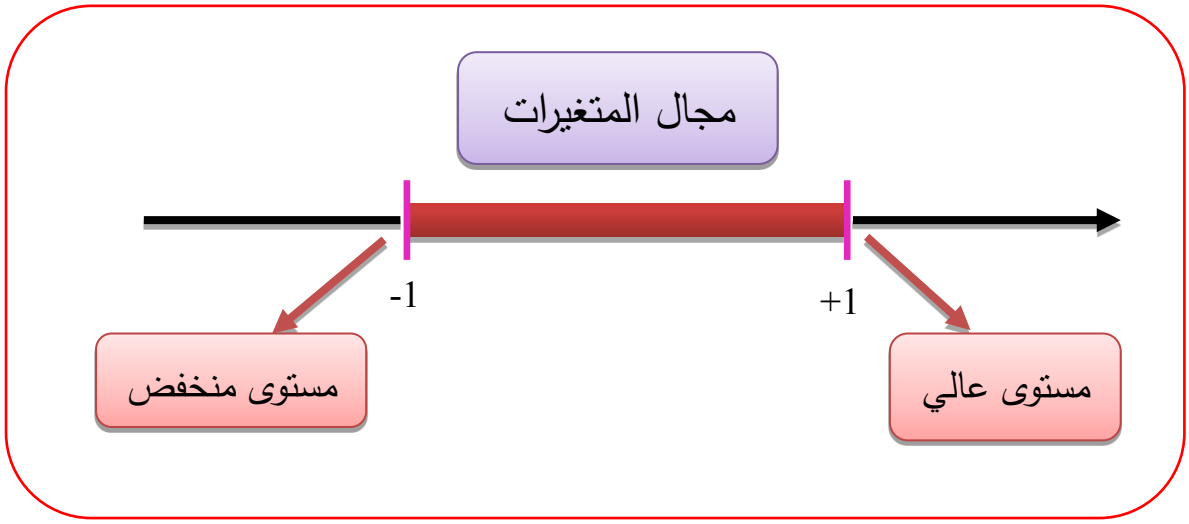
- العوامل التي يمكن التحكم فيها والتي تعتمد بشكل مباشر على الإختيار (الضغط و درجة الحرارة و المادة ، إلخ).
- العوامل التي لا يمكن التحكم فيها والتي تختلف بشكل مستقل عن الإختيار (الظروف المناخية و بيئة و ما إلى ذلك).
- عوامل المدخلات التي نحاول تحليل تأثيرها مثل: المواد الخام، سرعة التحريك، درجة الحرارة، إلخ.

هناك نوعان من العوامل المدروسة في التصميم التجريبي وهما:

- العوامل الكمية المستمرة مثل: درجة الحرارة، التدفق، الضغط، التركيز، السرعة... إلخ.
- العوامل الكمية الغير مستمرة مثل : إختلاف الكواشف... إلخ.
- العوامل النوعية مثل: طبيعة العملية (غير المستمرة أو المستمرة)، و نوع المناخ... إلخ.

II.2.5. مفهوم الفضاء التجريبي:

يهتم المجرب الذي يقوم بإجراء دراسة بكمية يقيسها مع كل إختبار وهذه الكمية تسمى الإستجابة، تعتمد قيمة هذه الكمية على عدة متغيرات، و بالتالي فإن الإستجابة تعتمد على عامل واحد أو أكثر ويمكن تمثيل العامل الأول بمحور متدرج وموجه كما في **الشكل(II-2)**، وتسمى القيمة المعطاة لعامل إجراء اختبار بالمستوى، و عندما ندرس تأثير العامل بشكل عام، نحدد المجال بين مستويين: مستوى المنخفض و مستوى عالي[6].

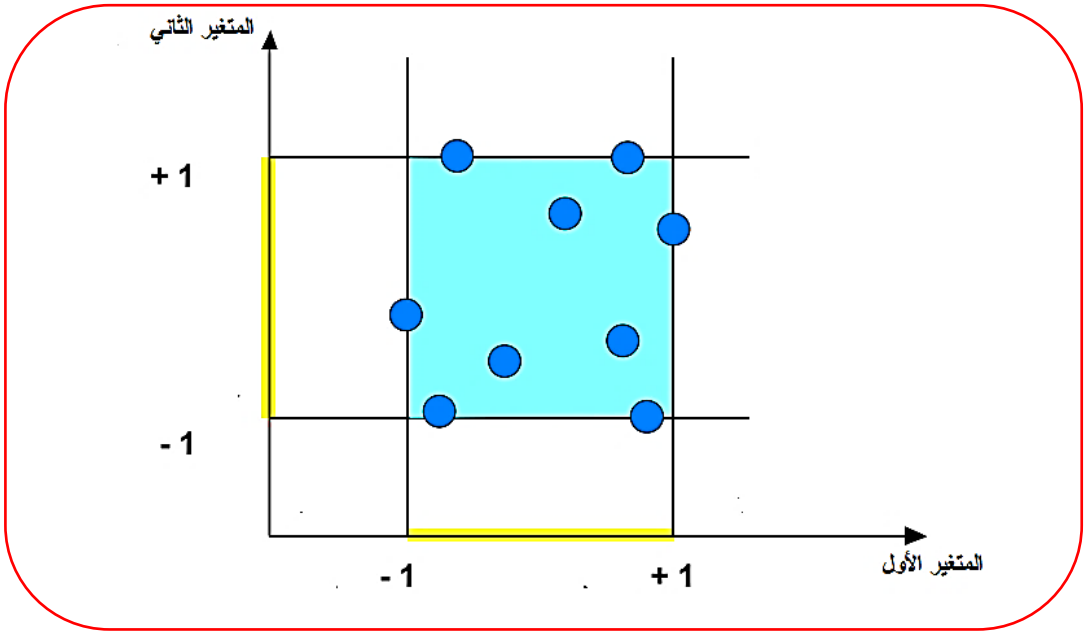


الشكل(II-2): مجال تغير العامل أو المتغير[7].

تسمى جميع القيم التي يمكن أن تأخذ للمتغير بين المستوى المنخفض والمستوى العالي، بمجال الإختلاف للمتغير ونكتب عادةً المستوى المنخفض بمقدار 1− والمستوى العالي 1+.

إذا كان هناك عامل ثانٍ، فيتم تمثيله أيضًا بمحاور متدرجة وموجهة، كما هو الحال بالنسبة للعامل الأول، مستواه العالي ومستواه المنخفض ومدى الإختلاف بينهما، ويتم ترتيب هذا المحور الثاني بشكل متعامد مع الأول لنحصل على نظام الإحداثيات الديكارتية الذي يحدد الفضاء الإقليدي ثنائي الأبعاد، هذا الفضاء يسمى بالفضاء التجريبي[7].

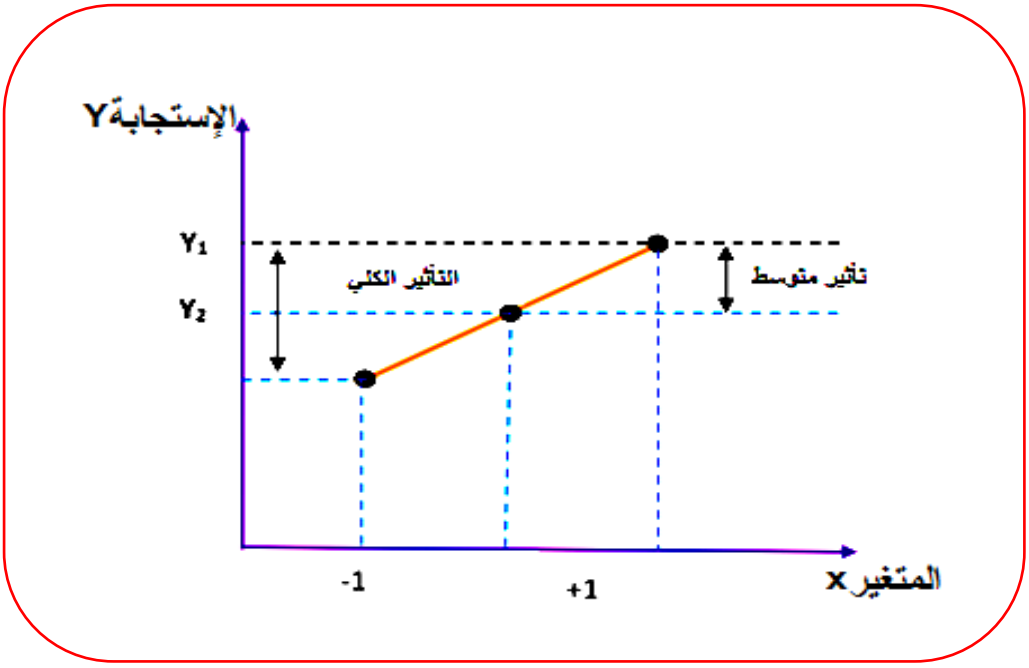
يحدد تجميع مساحة المتغيرات مجال الدراسة، وهذه المنطقة من الدراسة هي مساحة التجريبية التي يختارها المجرب لإجراء إختباراته، و تكون موزعة على شكل نقاط في مجال الدراسة **الشكل(II-3)** وهذه الطريقة توضح التجربة على شكل نقاط في الفضاء الديكارتي [8].



الشكل(II-3): ترتيب النقاط التجريبية في مجال الدراسة[8].

II.3.5. تأثير المتغيرات عن الإستجابة:

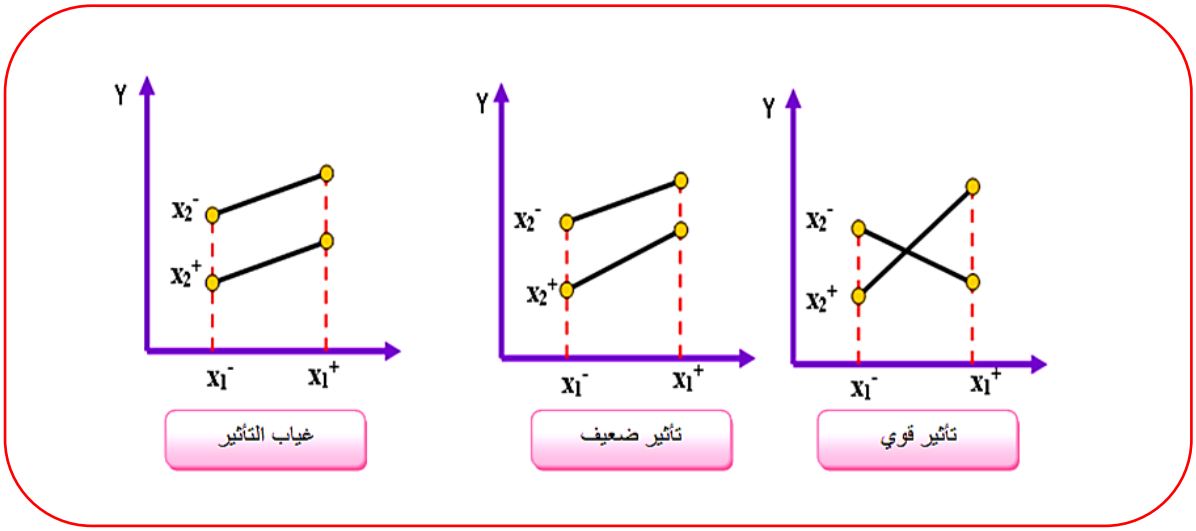
يقابل تأثير العامل x إختلاف الإستجابة y و يمكن أن يتغير x من قيمته في المستوى 1− إلى قيمة أخرى في المستوى 1+، كما يمكن تحليل التأثير بيانيا، و هذا كلما إزداد الميل زاد التأثير أكثر، كما هو موضح في **الشكل (II-4)**.



الشكل (4-II):رسم توضيحي لتأثير المتغير [4].

4.5.II. التأثير بين المتغيرات:

يتم التعبير عن تأثير متغير واحد إعتمادا على القيمة التي يتخذها المتغير آخر، ويظهر هذا تأثير في **الشكل (5-II)** من خلال خطين غير متوازيين لذلك كلما إنحرفت الخطوط عن الخط الموازي، زادت درجة تأثير.



الشكل (5-II): منحى تأثير بين متغيرين [4].

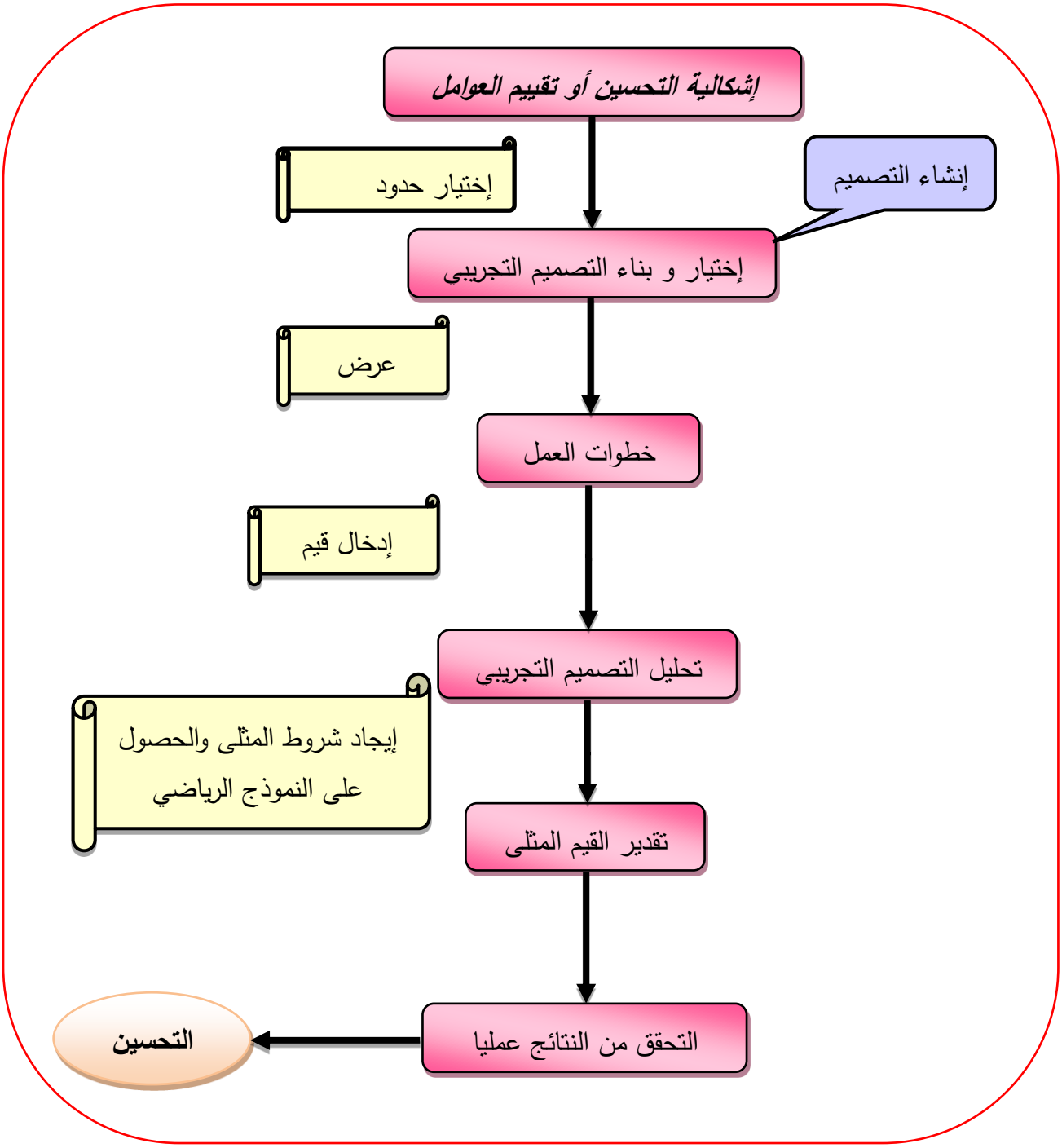
6.II. منهجية التصاميم التجريبية:

تتيح خطط التجارب تغيير مستويات جميع العوامل مع كل تجربة، ولكن بطريقة مبرمجة ومنطقية.

المزايا الرئيسية للتصاميم التجربية هي:

- إنخفاض في عدد التجارب.
- عدد العوامل المدروسة المهمة.
- الكشف عن التأثيرات بين العوامل.
- دقة أفضل للحصول على النتائج.
- النتائج المثلى.
- نمذجة النتائج.

يتم تقديم طريقة التصميم التجريبية بشكل أساسي **الشكل (6-II)** لتقييم عدة عوامل في وقت واحد والتنبؤ بالتأثيرات بين العوامل أو المتغيرات [9] .



الشكل (II-6): الإجراء العامل تنفيذ خطة التجربة[9].

II.7 .أنواع التصميمات التجريبية:

هناك عدة أنواع من خطط التجربة التي تسمح لك بالتكيف مع معظم العوامل[10]:

- خطط العوامل كاملة Plans factoriels complets.
- خطط العوامل الجزئية Plans factoriels fractionnaires.
- خطط تاجوشي Plans Taguchi.
- خطط أسطح الإستجابة Plans surfaces de réponses .
- خلط الخطط Plans de mélanges.
- خطط الكتلة عشوائية Plans des blocks randomisés.
- الخطط المثلى Plans optimaux .

II.8. خطط طريقة سطح الإستجابة (RSM):

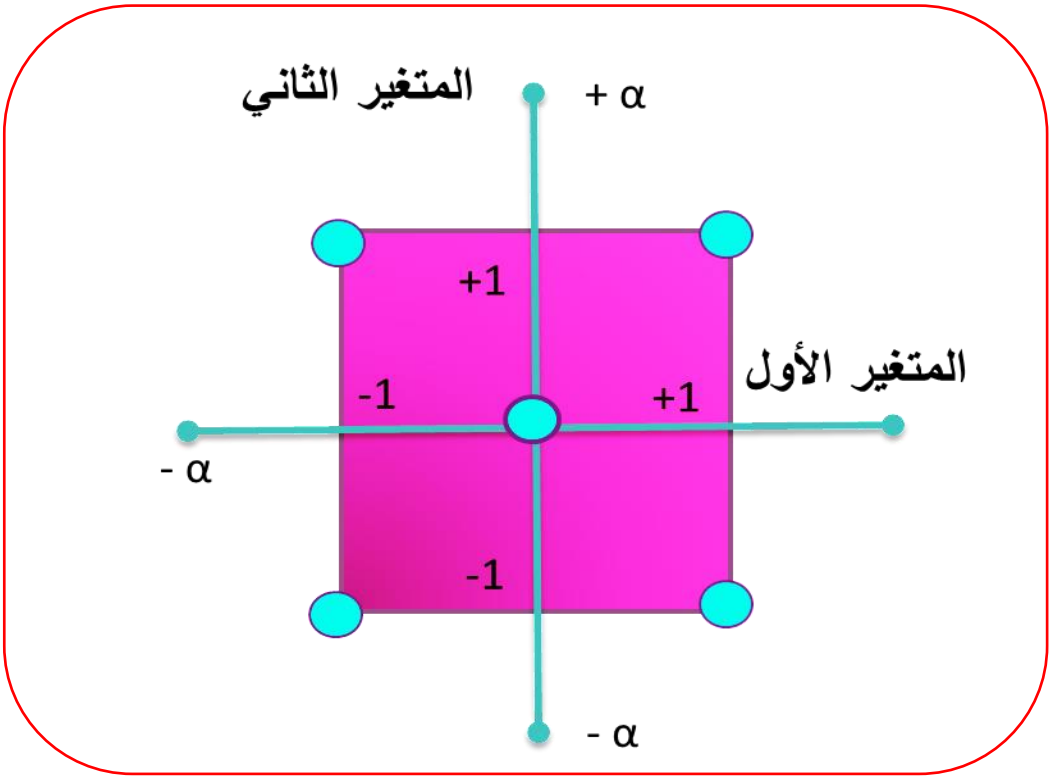
هناك عدة أنواع من الخطط الثانوية، أهمها:

II.8.1.الخطط المركبة:

التصاميم المركبة تكون مناسبة تماما للمسار التسلسلي لهذه الخطة و الجزء الأول من الخطة عبارة عن خطة العوامل الكاملة و تحتوي على نقاط في المركز، للتحقق من صحة النموذج الرياضي (شروط الدرجة الأولى وشروط التأثيرات).

كما أن الخطة المركبة تتناسب بشكل جيد مع المسار المتسلسل للدراسة، و الجزء الأول من الدراسة عبارة عن خطة فصلية أو كسرية كاملة تكملها نقاط في المركز للتحقق من صحة النموذج الرياضي (مصطلحات الدرجة الأولى وشروط التأثير)؛ إذا كانت إختبارات التحقق من صحة خطة إيجابيا (الإستجابة المقاسة في وسط المجال تساوي إحصائيًا الإستجابة المحسوبة في نفس النقطة)، التي تنتهي

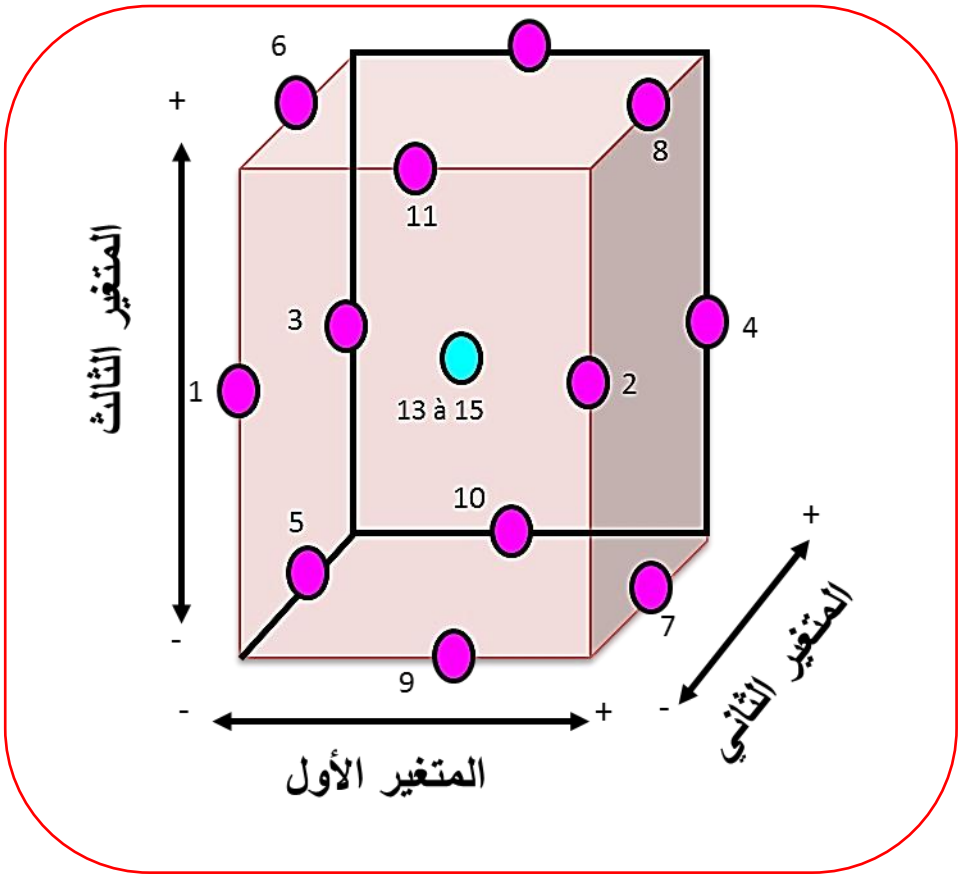
بها دراسة الخطة في معظم الأحيان، و إذا كانت سلبية يتم إجراء إختبارات إضافية لإنشاء نموذج من الدرجة الثانية من جديد؛ كما تمثل لإختبارات الإضافية بنقاط التجربة الموجودة على محاور الإحداثيات والنقاط المركزية الجديدة التي يوضحها **الشكل(II-7)**[11].



الشكل (II-7): خطة مركبة لعاملين[7].

II. 2.8. خطط بوكس بينكين:

توجد النقاط التجريبية في منتصف الضلع على كل جانب من المكعب **الشكل (II-8)**، وتتضمن هذه الخطة إثني عشر تجربة يمكن إضافة نقطة مركزية (أو أكثر) إليها، فإننا عادة ما نجعل ثلاثة أو أربعة نقاط في المركز؛ تتميز خطط بوكس بينكين بمعيار تحسين معين: خطأ تنبؤ الإستجابة هو نفسه بالنسبة لجميع نقاط المتمركزة في داخل المجال التجريبي، هذا هو معيار التباين التسلسلي؛ و من أشهر خطط بوكس بينكين هي تلك التي تسمح بدراسة ثلاثة عوامل أو أكثر[12].



الشكل (II-8): خريطة بوكس بينكين ثلاثة عوامل[7].

II.9. النموذج رياضي:

هي علاقة رياضية تُظهر التغيير في إستجابة التي تنتج عن تغيير في متغير واحد أو أكثر؛ و الهدف من هذه النمذجة الحصول على نموذج رياضي يكون قادرًا على حساب جميع الإجابات في مجال الدراسة دون أن تكون مضطرً لإجراء التجارب[11].

النماذج الرياضية المستخدمة من الدرجة الأولى (مع أو بدون تأثيرات) بالنسبة لكل عامل؛ هذه الخطط هي الأكثر إستخدامًا لأنها تسمح بفحص المتغيرات وتؤدي في بعضا لأحيان إلى نمذجة بسيطة و لكنها كافية؛ ومع ذلك هناك العديد من الحالات التي يكون فيها من الضروري وجود نمذجة جيدة للظواهر التي يتم دراستها و حيث من الضروري الإنتقال إلى النماذج الرياضية من الدرجة الثانية؛ لكي

نستخدم بعد ذلك خططاً الأسطح الإستجابة وتستخدم هذه الخطط نماذج متعددة المتغيرات من الدرجة الثانية [11, 13].

في الأخير نحصل على نموذج الرياضي للخطط بأسطح الإستجابة (RSM) من الدرجة الثانية مع تأثيرات التربيعية لكل متغير:

$$Y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \cdots + \sum a_{ii} {x_{ii}}^2 + a_{ij\ldots z} x_i x_j \ldots x_z$$

حيث:

Y هي الإجابة و يتم قياسه من خلال التجارب.

و تمثل x_i، x_jالمستوى المعين للمتغير.

و تمثل قيمa_0؛ a_i ؛ a_{ij} ؛ a_{ii} معاملات النموذج الرياضي.

10.II. أنواع برنامج الحاسوب التي تهتم بتصاميم التجريبية:

يحتوي البرنامج الخاص بالتصميم التجريبي على مكتبات التصميم الكلاسيكية ،كما أنها تتيح إنشاء تصميم معين **الجدول (1-II)**؛ و يمكننا حساب المعاملات بإستخدام جدول بيانات، ولكن هذا يتطلب البرمجة والوقت لذلك من الأفضل إستخدام البرامج المناسبة التي لا تؤدي فقط لحساب المعاملات أيضًا الحسابات الإحصائية المستخدمة لتقييم جودة النموذج الرياضي؛ و يتم أيضا برمجة برنامج التصميم التجريبي لحساب الإستجابات المتوقعة في جميع مجالات الدراسة، ولإجراء تحليل التباين ولرسم منحنيات ثنائية أو ثلاثية الأبعاد، ولإنشاء أسطح إستجابة ولتحديد مجالات الإستجابة و هذه المجموعة من الإحتمالات تجعل من الممكن إجراء تحليلات متعددة و إلقاء نظرة على هذه البيانات من جميع الزوايا؛ وبالتالي فإننا نتحصل في وقت قصير على جميع المعلومات الموجودة في نتائج التصميم التجريبي[14].

البرامج	مواقع الأنترنيت
JMP	http://www.jmpdiscovery.com
Minitab	http://www.minitab.fr
Statistica	http://www.intesoft.com/produits/tech/statistica
Statgraphics	http://www.sigmaplus.fr
Unscrambler	http://www.camo.no
Pirouette	http://www.infometrix.com
Modde	http://www.umetrics.com
Design Expert	http://www.statease.com/dx10.html

الجدول(II-1): برنامج للتصاميم التجريبية[14].

خلاصة الفصل:

يهدف التصميم التجريبي إلى تنظيم المنهجية التجريبية وتحليل النتائج من خلال تطبيق عدة أدوات والإختبارات إحصائية، و يؤدي إستخدام التصميم التجريبي إلى إنشاء خطة بأقصى قدر من الدقة في النتائج مع أقل عدد ممكن من التجارب للحصول على ظروف مثلى للإستجابة، و التي يعبر عنها في الأخير على شكل نموذج رياضي.

المراجع:

[1] W. Tinsson, "Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques", Springer Science & Business Media, 2010.

[2] R. A. Fisher, "Statistical methods for research workers", Breakthroughs in statistics. Springer, p. 66-70, 1934.

[3] P. Dagneli, "La planification des expériences: choix des traitements et dispositif expérimental", Journal de la Société française de statistique, vol. 141, no. 1-2, pp. 5-29, 2000.

[4] M. C. Bidjou-Haiour and M. Z. Regainia, "Etude par simulations numériques de la réactivité dans la réaction d'acylation enzymatique de substrats osidiques", Memoire Magister, Badji Mokhtar-Annaba University, 2012.

[5] G. J. D. P.Y. Jacques, "Introduction aux Plans d'expériences", Dunod. Paris, 2001.

[6] L. Gherairi, "Etude de l'effet de la température sur la stabilité des émulsions à base decaséinate de sodium à l'aide des plans d'expériences " Mémoire de Master, Universite Kasdi Marbah Ouargla, 2011.

[7] J. Goupy, "Plans d'expériences", Techniques Ingénieur, 2006.

[8] M. Ayad and Y. Barka, "Modélisation des Betons Ordinaires par des Plans d'experiences", Mémoire de Master, Universite Abou Bekr Belkaid - Tlemcen, 2014.

[9] J.-J. Rousselle, "Les contours actifs ,une méthode de ségmentation: application à l'imagerie médicale", These de Doctorat, École Polytechnique Universitaire (Tours), 2003.

[10] F. Etsinda Mpiga, "Nouvelle approche hybride d'optimisation multiobjective basée sur la méthode des surfaces de réponse et le système de colonies de fourmis",Memoire ,Université Du Québec, École de technologie supérieure, 2008.

[11] A. I. Khuri and S. Mukhopadhyay, "Response surface methodology", Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics, vol. 2, no. 2, pp. 128-149, 2010.

[12] G. A. Lewis, D. Mathieu, R. Phan-Tan-Luu, "Pharmaceutical experimental design", CRC press, 1998.

[13] D. H. Doehlert, "Uniform shell designs", Journal of the Royal Statistical Society: Series C (Applied Statistics), vol. 19, no. 3, pp. 231-239, 1970.

[14] J. Goupy, "Modélisation par les plans d'expériences", Techniques de l'ingénieur, Mesures et contrôle, no. R275, pp. R275. 1-R275. 23, 2000.

الفصل الثالث:
التحليل الإحصائي للنمذجة

مقدمة:

يعرف التحليل الإحصائي بأنه عملية يتم من خلالها تحضير وتجهيز البيانات المتعلقة والمرتبطة بالبحث العلمي، لكي تحلل هذه البيانات ويتم دراستها ومن ثم إستخراج النتائج منها، من خلال إتباع العديد من الطرق الرياضية و الإحصائية، وبالتالي تتشكل علاقات ذات أهمية بين البيانات و الطرق الإحصائية.

III.1. التحليل الإحصائي للبيانات:

III.1.1. الطرق الإحصائية:

تعتمد الطرق الإحصائية على تحليل مجموعة من البيانات تشمل العديد من مجالات الدراسة، وتتم المعالجة بطريقة رياضية لتفسير العلاقة بين مجموعة من المتغيرات تتم صياغتها في شكل نموذج رياضي إحصائي يبين مدى التقارب والتناسق بين النتائج العملية و المتوقعة وهو ما يعرف بعلم التصميم التجريبي.

وهي عملية بحث تتم بطريقة يدوية أو عن طريق الحاسوب بإستخدام برامج إحصائية مختلفة كما يعتمد التصميم التجريبي بإيجاد علاقة منطقية بين المتغيرات و النتائج، تتلخص هذه البيانات بطريقة سهلة و مفهومة و مفيدة، كما تعرف هذه البيانات و المعلومات الملخصة التي يتم الحصول عليها من عملية النمذجة [1، 2].

III.1.2. تحليل الإنحدار Analyse de régression:

وهو طريقة يمكن من خلالها تحديد العلاقة (معادلة رياضية) بين المتغيرات التابعة و المستقلة و طبيعة العوامل المؤثرة بينهما[3] ، و يوجد نوعان من تحليل الإنحدار هما:

الإنحدار الخطي البسيط Régression linéaire simple:

يتمثل في دراسة علاقة رياضية خطية (على شكل خط مستقيم) بين متغيرين فقط، متغير تابع (y) "Variable dépendante " يتأثر بإختلاف المتغير المستقل(x) ، ويعبر عنها بالمعادلة الرياضية التالية[4, 5]:

$$y = ax + b \dots\dots\dots\dots (1 - \text{III})$$

الإنحدار الخطي المتعدد (MLR) Régression linéaire multiple:

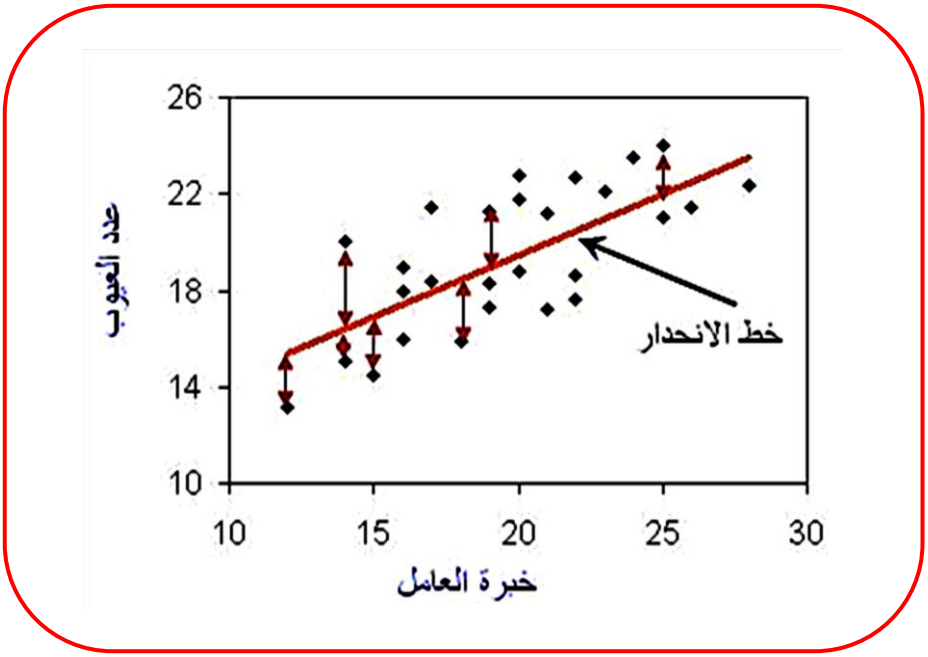
يختلف عن الإنحدار الخطي البسيط في عدد المتغيرات المستقلة x المرتبطة بالمتغير التابع y ، وتعتمد هذه الطريقة في تحديد العلاقة الحقيقية بين التابع y و أحد المتغيرات المستقلة x_i و إستبعاد البقية ، و ميل الخط يمثل بكمية المتغير y المناظر للتغير في المتغير بمقدار وحدة واحدة x_i كما هو مبين في **الشكل (1-III)**، وتمثل معادلته على الشكل التالي**(2 − III)**[6, 7]:

$$y = b + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + \cdots + a_nx_n \dots\dots\dots\dots\dots (2 - \text{III})$$

حيث:

b : ثابت الإنحدار الخطي.

$a_1 \dots . a_n$: ميل الإنحدار y على المتغير المستقل.



الشكل (III-1) : خط الإنحدار.

2.III. معاملات التحليل الإحصائي:

معاملات التحليل الإحصائي هي مجموعة من العوامل و المؤشرات التي تستخدم لإختبار جودة النموذج الإحصائي و تقييم العلاقة بين العناصر المدروسة، و هي عبارة عن مؤشرات حقيقية للحكم عن دقة التحليل الإحصائي و طبيعة الإرتباط بين عناصر النموذج، و من أهم هذه المعاملات نذكر:

2.1.III. معامل الإرتباط Coefficient de corrélation (R):

وهو عامل محدد لقوة العلاقة بين المتغير التابع و المتغيرات المستقلة المستخدمة، ويأخذ قيم محصورة بين 0 و 1، حيث يعبر عن جودة النموذج كلما إقتربت قيمته من الواحد، وبالعكس كلما إقتربت قيمته من الصفر يكون النموذج سيء، كما تفوق قيمة معامل الإرتباط المتعدد قيمة معامل الإرتباطات الفردية.

III.2.2. معامل التحديد (R^2) Coefficient de détermination:

وهو عامل إحصائي يفسر التباين الواقع بين المتغيرات التابعة والمتغيرات المستقلة داخل النموذج الإحصائي المدروس، تنحصر قيم R^2 (R Square) بين (0 و 1) [8]، فكلما كانت قيمته قريبة من الواحد كانت نقاط العينات قريبة من خط المربعات الصغرى للنموذج، أما إذا إبتعدت قيم R^2 عن الواحد تكون نقاط السحابة أكثر تشتت وهو ما يدل عن سوء النموذج، ويمكن تقسيم قيم R^2 إلى قيم كبيرة (0.75)، متوسطة (0.5) و صغيرة (0.25)[9].

يتغير معامل التحديد المتعدد R^2 بمجرد تغير أو زيادة عدد المتغيرات المستقلة في النموذج دون الأخذ بالإعتبار ما إذا كانت المتغيرات المستقلة (x) المضافة مؤثرة أو غير مؤثرة على المتغيرات التابعة (y) [8].

III.2.3. معامل التحديد المعدل (R^2_{adj}):

يستخدم معامل التحديد المعدل (R^2_{adj}) "Square Adjusted" لتحديد العلاقة بين المتغيرات، كونه يعتمد على قيمة متوسط المربعات بدلا من مجاميعها، إذ أنه يتغير بتغير عدد المتغيرات المستقلة المدروسة وتأثيرها على النموذج الرياضي، بخلاف قيمة معامل التحديد R^2، التي تزداد بمجرد إضافة متغير أخر، فلا يمكن إستخدامه لدراسة تأثير المتغير الإضافي في عملية الإنحدار الخطي المتعدد، حيث تتراوح قيمته بين الصفر و الواحد، وهو عامل يفيد في عملية المقارنة بين مجموعة نماذج إحصائية و إختيار النموذج الأحسن، كما تؤول قيمة R^2_{adj} إلى قيمة R^2 في العينات الكبيرة[10, 11].

4.2.III. إختبار F –valeur:

وهو عامل إختبار يعتمد في تحليل التباين المفسر عند إضافة عدد من المتغيرات في معادلة الإنحدار، حيث يأخذ قيم مختلفة تزداد كلما كان النموذج أحسن وتقل كلما ساء النموذج، ويمثل نسبة MS Regression / MS Residual.

حيث تأخذ قيمة التباين **F-valeur** أي قيمة فإذا كانت تساوي الصفر فهذا يعني أن النموذج المقترح غير ملائم أي لا يمكن تفسير التشتت بإستخدام هذا النموذج، أما إذا أخذت قيم تختلف عن الصفر، فيكون النموذج ملائم أي أن هناك إرتباط تام بين المتغيرات المدروسة.

5.2.III. قيمة الإحتمالية P-valeur:

يفيد P- valeur في معرفة تأثير كل متغير بطريقة الإنحدار المتعدد أو البسيط، حيث يأخذ قيم مختلفة و يشترط أن تكون P- valeur أقل من 0.05 ذلك من أجل الموافقة على النموذج المدروس وتطبيقه في عملية التنقيب عن البيانات[12, 13].

6.2.III. التفاوت الكلي (TOSS) Total Variation:

وهو متغير يعبر عن مجموع التغيرات أو التذبذبات الواقعة في المتغير التابع (Y)، و التي تشمل كل من:

- **التفاوت المفسر (RSS) Variation expliquée :**

يفسر بالمتغير المستقل و النموذج المتحصل عليه من خلال ربط العلاقة بين المتغير التابع (y) و المستقل (x)، و يرمز له بالرمز **(RSS)** حيث **R** هي نوع النموذج المفسر **(Régression)**.

- **التفاوت غير المفسر (ESS) Variation inexpliquée :**

يعود هذا النوع من التفاوت إلى عوامل لا يمكن تحديد قيمها أو قياسها، ويرمز لها بالرمز **(ESS)** حيث **E** تدل على الخطأ **Erreur** أو الباقي **Résiduel** الناتج عن هذا التفاوت[3].

III.7.2. تحليل التباين (ANOVA) Analyse de la variance:

وهو مقياس إحصائي يستخدم لتقييم العينات المدروسة من خلال قياس درجة الإختلاف بين العوامل المدروسة و العوامل المتوقعة فهو مقياس التشتت، ويكون التشتت أقل كلما كانت قيمة التباين أصغر، وهو عبارة عن تحليل التفاوت الكلي(**TOSS**) وعناصره (**RSS**، **ESS**) كما هو موضح في **الجدول (III-1)** معطيات (**ANOVA**) [3].

الجدول (III-1) : تحليل **ANOVA** لتوضيح ملاءمة النموذج[14].

P	F	درجة الحرية (noté ν)	مجموع المربعات(notée SS)	
.	.	$\nu_{tot} = n - 1$	$SS_{tot} = \sum_{i=1}^{n} (y_i - \bar{y})^2$	تباين الكلي **Ecart total**
P_1	F_1	$\nu_{res} = n - \nu_{modèle}$	$SS_{res} = \sum_{i=1}^{n} (\eta_i - y_i)^2 = \sum_{i=1}^{n} {e_i}^2$	تباين المتبقي **Ecart résiduel**
		$\nu_{reg} = p - 1$	$SS_{reg} = SS_{tot} - SS_{res}$	تباين الإنحدار **Ecart de régression**
P_2	F_2	$\nu_{exp} = n_0 - 1$	$SS_{exp} = \sum_{i=1}^{n_i} ({y_i}^0 - \bar{y}^0)$	تباين التجريبي النقي **Ecart expérimental pur**
		$\nu_{aju} = \nu_{res} - \nu_{exp}$	$SS_{aju} = SS_{res} - SS_{exp}$	تعديل الإنحراف **Ecart d'ajustement**
P_3	F_3	$n - p - df_{pe}$	$RSS - SS_{pe}$	إختبار عدم الملاءمة **Lack of Fit**

1.7.2.III. متوسط المربعات (MS) Carrés moyens :

وهي قيمة المربعات المتوسطة المقابلة أو الفروق، يتم حسابه بقسمة كل من مجموعة التصحيح SS على درجات الحرية DF، وتمثل قيمة مربع الإنحراف المعياري SD [13].

2.7.2.III . معامل تضخم التباين Carrés moyens (VIF) :

يستخدم هذا العامل للكشف عن الإرتباط الخطي ، أي عدم وجود إرتباط تام أو شبه التام بين المتغيرات، و إختبار معامل التباين المسموح (VIF) فإذا تجاوزت قيمته 10 يدل عن الإرتباط الخطي بين المتغيرات المستقلة [15].

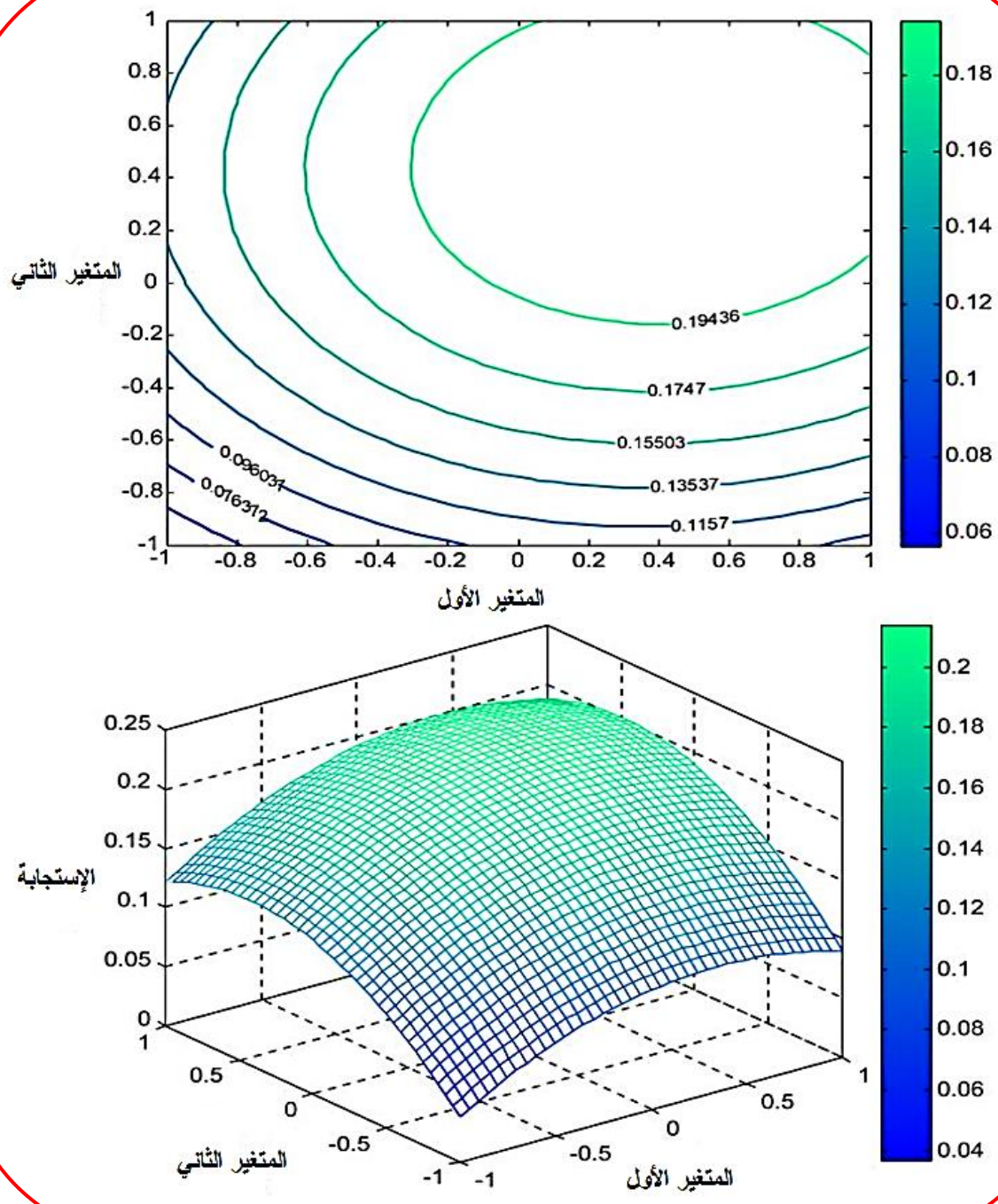
3.III. التحقق من صحة النموذج:

يكون التحقق من الصحة النموذج بإجراء تجارب إضافية في نقاط تقع داخل مجال الدراسة، و بعدها يتم مقارنة القيم المقاسة مع تلك المحسوبة من النموذج، يتم التأكد من صحة هذا الأخير إذا كانت الإختلافات بين القيم المقاسة و القيم المحسوبة غير كبيرة[16].

4.III.التمثيل البياني:

بعد خطوة ضبط النموذج، نقوم بتمثيلها بيانياً بإستخدام رسم بياني من نوع "سطوح الإستجابة" مما يسمح لنا بتصور سلوك الإستجابة بدلالة المتغيرات و توفر منحنيات الإستجابة مساعدة ملحوظة في إستخدام النموذج بهدف تحسين النظام التجريبي.

حيث يتم تمثيل النموذج الذي تم التأكد منه بيانياً عن طريق تخطيط منحنيات الإستجابة ثنائي الأبعاد(2D) كما يوضح **الشكل (2-III)**، و للقيام بذلك نختار في كل مرة متغيرين للدراسة، حيث مستويات المتغيرات الأخرى التي يتم تثبيتها (على سبيل المثال ، في متوسط قيمتها)، بإضافة إلى الرسم البياني لمنحنيات الإستجابة لثلاثي الأبعاد (3D) للإشارة إلى تغير قيم الإستجابة لإثنين من المتغيرات المختارة كما هو مبين في **الشكل (2-III)**[17].



الشكل (2-III) : تمثيل بياني ثنائي و ثلاثي الأبعاد بين المتغيرات و الإستجابة[16].

خلاصة الفصل:

في هذا الفصل تعرفنا على أهم طرق التحليل الإحصائي و من بين هذه أهم طرق طريقة تحليل الإنحدار الذي يعتبر أداة إحصائية تقوم ببناء نموذج إحصائي و طريقة تحليل التباين لتحديد ملائمة النموذج الرياضي، بحيث ينتج عنه معادلة إحصائية توضح العلاقة بين المتغيرات و الإستجابة، كما تم التطرق في هذا الفصل إلى أهم معاملات هذا التحليل الإحصائي .

المراجع:

المراجع العربية:

[3] ا. شفيق، "طرق الإحصاء تطبيقات الإقتصادية و الإدارية بإستخدام SPSS"، دار المناهج للنشر والتوزيع، 2008.

[5] ف. جمال، "نظرية الأقتصاد القياسي" ديوان المطبوعات الجامعية، 168 ص، 1993.

[6] ت. صالح، "مدخل إلى نظرية القياس الإقتصادي. ج. 1، دراسة نظرية مدعمة بأمثلة و تمارين"، ديوان المطبوعات الجامعية، 285ص، ط 2، 2010.

[14] بـ. مـ. نصر الدين، "دراسة وتقييم المشاريع الاستثمارية مع دراسة حالة شركة الإسمنت ببني صاف," مذكرة لنيل شهادة الماجستير العلوم الاقتصادية تخصص بحوث عمليات وتسيير المؤسسة جامعة تلمسان، 2010.

المراجع الأجنبية:

[1] C. T. Leondes, "Expert systems: the technology of knowledge management and decision making for the 21st century", Elsevier, 2001.

[2] T. Hastie, R. Tibshirani, and J. Friedman, "The elements of statistical learning: data mining, inference, and prediction", Springer Science & Business Media, 2009.

[4] G. Mélard, "Méthodes de prévision à court terme," ULB--Universite Libre de Bruxelles, 1990.

[7] G. S. Maddala and K. Lahiri, "Introduction to econometrics", Macmillan New York, 1992.

[8] D. Salvatore and D. P. Reagle, "Schaum's Outlines Statistics and Econometrics", McGraw-Hill Professional Publishing, 2002.

[9] J. F. Hair, C. M. Ringle, M. Sarstedt, and Practice, "PLS-SEM: Indeed a silver bullet", Journal of Marketing theory and Practice, vol. 19, no. 2, pp. 139-152, 2011.

[10] J. Henseler, C. M. Ringle, and R. R. Sinkovics, "The use of partial least squares path modeling in international marketing", in New challenges to international marketing: Emerald Group Publishing Limited, 2009.

[11] W. W. Chin, "How to write up and report PLS analyses", in Handbook of partial least squares: Springer, pp. 655-690, 2010.

[12] L. Eriksson, J. Trygg ,and S. Wold", CV-ANOVA for significance testing of PLS and OPLS® models", Journal of Chemometrics: A Journal of the Chemometrics Society, vol. 22, no. 11-12, pp. 594-600, 2008.

[13] L. St, S. J. C. Wold, "Analysis of variance (ANOVA)", Chemometrics and intelligent laboratory systems, vol. 6, no. 4, pp. 259-272, 1989.

[15] D. W. Marquaridt, "Generalized inverses, ridge regression, biased linear estimation, and nonlinear estimation," Technometrics, vol. 12, no. 3, pp. 591-612, 1970.

[16] M. C. Bidjou-Haiour and M. Z. Regainia, "Etude par simulations numériques de la réactivité dans la réaction d'acylation enzymatique de substrats osidiques", Memoire de Magister, Universite Badji Mokhtar-Annaba, 2012.

[17] M. A. Bezerra, R. E. Santelli, E. P. Oliveira, L. S. Villar, and L. A. J. T. Escaleira, "Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry", Talanta, vol. 76, no. 5, pp. 965-977, 2008.

الجـــزء العمـــــلي

الفصل الرابع:
المواد و الطرق

IV. المواد و الأجهزة المستعملة:

1.IV. المـــــــــواد:

الجدول (1-IV): يوضح المواد المستعملة في خطوات العمل.

المواد	الصيغة الكيميائية	الكتلة المولية g/mol	النقاوة%	الشركة المنتجة
إيثانول	C_2H_5O	46.07	%96	Scharlau
الأسيتون	C_3H_6O	58.08	%99.5	VWR.prolabo chemicals
هيدروكسيد الصوديوم	NaOH	40	97%	BIOCHEM Chemopharma
بيروكسيد الهيدروجين (الماء الأكسجيني)	H_2O_2	34	%30	Bettaher BouaadjmiSIG
ثيوريا	CH_4N_2S	76 .12	%99	BIOCHEM Chemopharma
بيروكبريتيت الصوديوم	$Na_2O_5S_2$	190.11	%95	BIOCHEM Chemopharma
كبريتات الثنائي النحاس	$CuSO_4$	249.68	%99	BIOCHEM Chemopharm

2.IV. الأجهزة المستعملة:

- مخلاط مغناطيسي.
- جهاز pHمتر.
- ميزان حساس نوع (EXPLORER) بدقة (0.1 mg)، صنع من طرف (OHRUS).
- جهاز الأشعة تحت الحمراء IR-ATR من نوع (ID5 ATR)، صنع من طرف شركة (Nicolet IS5).
- جهاز الطرد المركزي (MODEL 800) صنع من طرف (EZ Swing 3K).
- جهاز التجفيف.

3.IV. خطوات العمل:

1.3.IV. تجميع و تحضير الصوف:

تم الحصول على صوف الغنم من السوق المحلي لولاية الوادي، كما هو موضح في الشكل (1-IV).

الشكل (1-IV): الصوف الخام.

2.3.IV. غسل الصوف:

بعد تجميع الكمية المطلوبة من الصوف التي تم غسلها بماء الحنفية عدة مرات بعدها يتم تجفيفيها تحت أشعة الشمس، والهدف من هذه المرحلة إزالة كل شوائب العشب والأوساخ.

3.3.IV.إزالة الدهون و الشوائب:

بعد عملية الغسل تم تقطيع الصوف المجفف إلى قطع صغيرة، ثم يتم غسل الصوف بإستخدام الأسيتون / الإيثانول بتركيز 5% عند 50/50 (حجم / حجم) لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة لإزالة الدهون، وفي الأخير يتم غسل الصوف بالماء المؤكسد بتركيز 10% للتخلص من بقايا الأسيتون والإيثانول وبعدها يتم وضعه في فرن عند درجة حرارة 50 C° كما هو موضح في الشكل(2-IV).

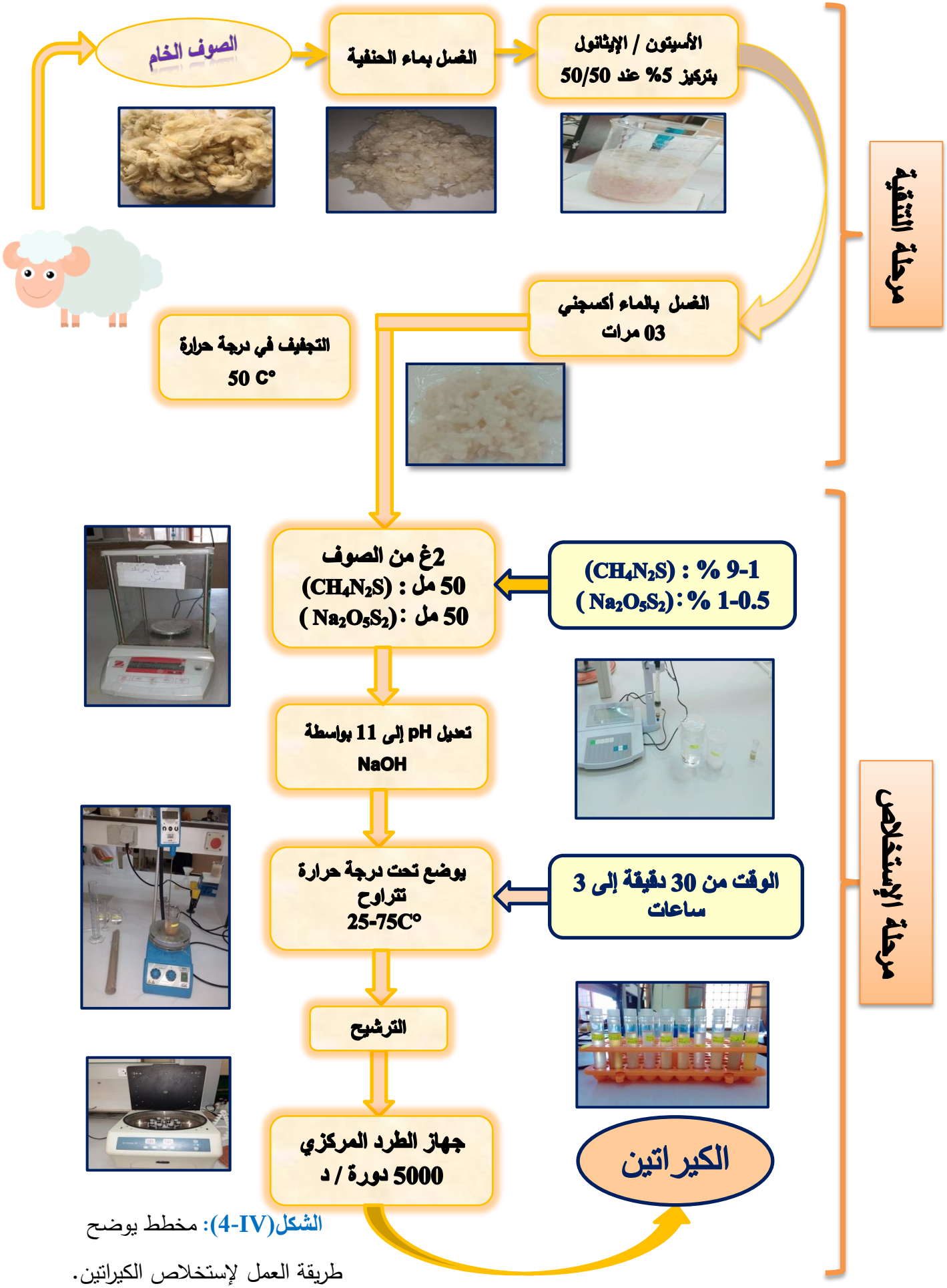
الشكل(IV-2): الصوف بعد التنقية.

IV.4.3. إستخلاص الكيراتين :

بعد عملية التجفيف عند درجة حرارة 50 درجة مئوية ، تم أخذ 2غ من الصوف ليتم معالجتها بـ 50 مل من محلول مائي يحتوي على الثيوريا بتركيز(1-9 %)، و بيروكبريتيت الصوديوم بتركيز (0.5-1%) بحجم 50 مل، و تم تعديل المحلول المائي إلى درجة الحموضة 11 بواسطة هيدروكسيد الصوديوم بتركيز 1% لمدة تتراوح بين 30 دقيقة إلى 3 ساعات عند درجة حرارة 25-75C° مع الرج كما هو موضح في **الشكل(IV-3)**، بعدها نضع العينات المستخلصة لفصل الرواسب بجهاز الطرد المركزي عند 5000 دورة في الدقيقة، بعد نهاية العمل بجهاز الطرد المركزي يتم فصل المواد السائلة عن المواد الصلبة (الراسب) المتبقية أسفل أنابيب الإختبار.

الشكل(IV-3): يوضح عملية الإستخلاص.

والمخطط التالي يلخص خطوات العمل:



الشكل(4-IV): مخطط يوضح طريقة العمل لإستخلاص الكيراتين.

4.IV.حساب المردود:

تم حساب المردود لكل تجربة إستخلاص بواسطة النسبة بين عينة الوزن المستخلص (W') والوزن الأولي للصوف (W) بإستخدام المعادلة التالية:

$$\text{المردود}(\text{Yield})\ \% = \frac{W'}{W}\ 100\% \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (1 - IV)$$

5.IV.البرنامج المستخدم:

تم إستخدام برنامج Design-Expert v.12، و هو برنامج إحصائي من شركة Stat-Ease Inc مخصصة خصيصًا لإجراء تصميم التجارب، يقدم Design - Expert إختبارات مقارنة وفرزًا وتوصيفًا وتحسينًا وتصميمًا قويًا للمتغيرات مع الإستجابة.

كما يوفر Design-Expert مصفوفات إختبار للفحص تصل إلى 50 متغيرا، و يتم تحديد الأهمية الإحصائية لهذه العوامل بتحليل التباين (ANOVA)، كذلك تساعد الأدوات الرسومية في تحديد تأثير كل متغير على النتائج المرجوة وتكشف عن التشوهات في البيانات.

خطوات العمل البرنامج الإحصائي:

للحصول على نتائج جيدة يجب إتباع خطوات سليمة و مدروسة كما هو موضح في **الملحق (2)**:

- تحديد نوع التصميم التجريبي المناسب للدراسة المراد دراستها،
- تعيين مجالات الدراسة لكل المتغيرات المدروسة،
- ثم العمل التجريبي وفقا للمعطيات التي يمنحها البرنامج، بإعتماد على التصميم المختار،
- إدخال النتائج التجريبية إلى البرنامج المعتمد في الدراسة،

- تحليل النتائج التي يمنحها البرنامج، للحصول على نموذج رياضي للتنبؤ مقبول،
- الحصول على النتائج المثلى للإستجابة.

6.IV. التحليل بمطيافية الأشعة تحت الحمراء ART-FTIR:

تعتبر المطيافية تحت الحمراء من أهم الوسائل المعتمدة في توضيح ماهية المركبات العضوية[1]، نظرا لتطبيقاتها الواسعة في مجالي التحليل النوعي والكمي، وخاصة التحليل النوعي الذي إعتمد في الآونة الأخيرة في التعرف على التركيب الكيميائي للمركبات المجهولة و الكشف عن نقاوتها[2].

1.6.IV. مناطق الأشعة تحت الحمراء:

تقع الأشعة تحت الحمراء في المنطقة المحصورة بين طيف الأشعة المرئية والموجات القصيرة microwave، والتي توافق الطول الموجي الواقع بين 0.75 - 500 ميكرومتر، وعادة ما يقاس طيف الأشعة تحت الحمراء بمعرفة الطول الموجي (λ) أو العدد الموجي ($\tilde{\nu}$)، فيكون مجال طيف الأشعة تحت الحمراء من $20\ cm^{-1}$ إلى $14000\ cm^{-1}$[3, 4]، وتقسم منطقة الأشعة تحت الحمراء إلى ثلاث مناطق، وهي:

- منطقة الأشعة تحت الحمراء القريبة: $14000 - 4000\ cm^{-1}$.
- منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى: $4000 - 650\ cm^{-1}$.
- منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة: $650 - 20\ cm^{-1}$.

معظم أجهزة التحليل الطيفي للأشعة تحت الحمراء تعتمد على منطقة الأشعة تحت الحمراء الوسطى $4000 - 650\ cm^{-1}$ في التحليل الطيفي، لأن أغلب المركبات العضوية يتم التعرف عليها من خلال المعلومات الطيفية لهذه المنطقة، وخاصة المنطقة ما بين $1500 - 700\ cm^{-1}$ وهي منطقة حساسة جدا، يطلق عليها منطقة البصمة حيث يتأثر عدد ومواضع الإمتصاصات في طيف الأشعة تحت

الحمراء بمجرد تغير بسيط في التركيبة الجزيئية للمركب الكيميائي[5]، كما أنها تتميز بإمتصاصات الروابط الفردية بين ذرات الكربون و الذرات الأخرى ماعدا الهيدروجين (C-CL,C-O,C-C)، أما بعض الأجهزة الحديثة فيمتد فيها التحليل إلى منطقة الأشعة تحت الحمراء البعيدة.

2.6.IV. التحليل النوعي:

وهو طريقة معتمدة إلى حد كبير في الكشف عن التركيبة الكيميائية للمركبات العضوية المجهولة و ذلك للتعرف على المجموعات الوظيفية المكونة لها[2]، أنظر إلى **الملحق (3)**.

IV. 7. Attenuated total reflectance (ATR):

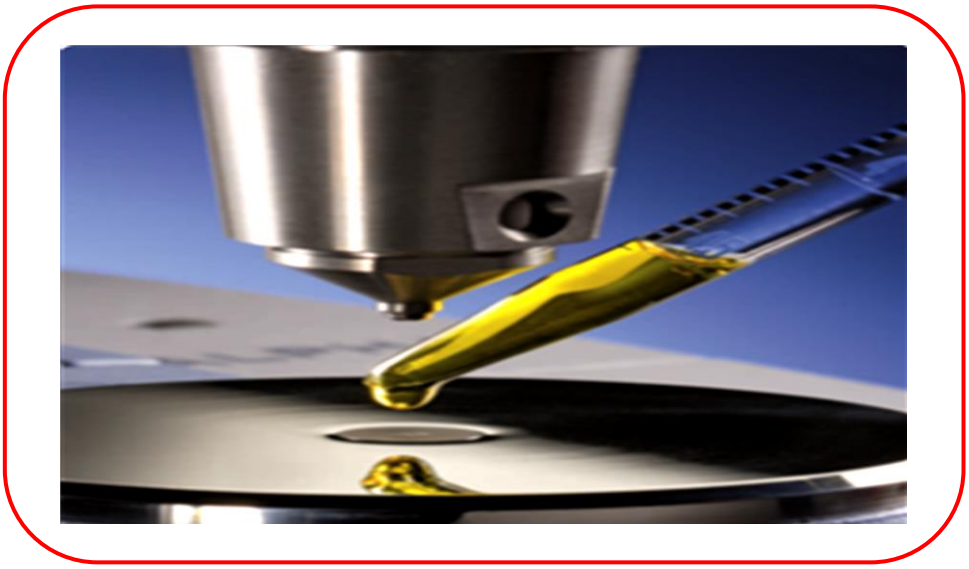
IV. 7. 1. تعريف:

يطلق عليها توهن الإنعكاس الكلي Attenuated total reflectance أو الإنعكاس الداخلي[3]، و تمكن من فحص العينات مباشرة في الحالة الصلبة والسائلة دون مزيد من التحضير، و تحديد المجموعات الوظيفية المتواجدة في المركبات.

2.7.IV. تحليل العينات:

السائلة:

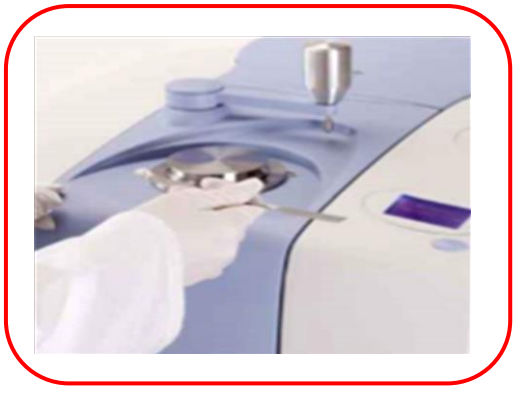
يتم تحليل السوائل بمطيافية تحت الحمراء ATR بطريقة بسيطة حيث يتم تغطية الكريستال كليا بسكب السائل مباشرة على سطحه، ويتم قياس طيف الأشعة مباشرة، كما هو مبين في **الشكل (IV-5)**.



الشكل (5-IV): طريقة وضع العينات السائلة في مكان وضع العينة لجهاز ATR .

الصلبة:

يتم وضع العينة الصلبة في منطقة الكريسال الصغيرة "التي تكون عادة من مادة الماس لمتانته و قوة تحمله للضغط" ثم يتم ضغط العينة الصلبة بوضع الذراع على الكريستال، أما بالنسبة لمساحيق المواد الصلبة يتم تحليلها بوضعها على سطح الكريستال بسمك صغير لا يتعد بعض الميليمترات دون ضغط الذراع وقد حققت هذه التجارب نتائج مثالية عالية[6].



الشكل (6-IV): طريقة وضع العينات الصلبة في جهاز ATR .

الشكل (7-IV): طريقة ضغط الذراع على العينات الصلبة في جهاز ATR.

ATR هي الطريقة الأكثر إستخداما، حيث تستخدم للتحليل النوعي و الكمي للعينات بطريقة سريعة وغير مكلفة، فتقوم بتحليل العينة في حالتها الفيزيائية دون أي معالجة على خلاف طريقة FT-IR التي تعتمد على طريقة تحضير العينات و خاصة العينات الصلبة التي تعالج بطريقة تشكيل أقراص شفافة من بروميد البوتاسيوم [7]، و التي يستوجب تحضيرها والتعامل معها بطريقة دقيقة، وللتغلب على مشاكل العينات المستعملة في طريقة FT-IR اقترحت طريقة ATR حيث يتم وضع العينة مباشرة في المكان المخصص لها سواء كانت صلبة، أو سائلة، أليافا أو مساحيق. ليتم تحليلها في غضون ثواني[8].

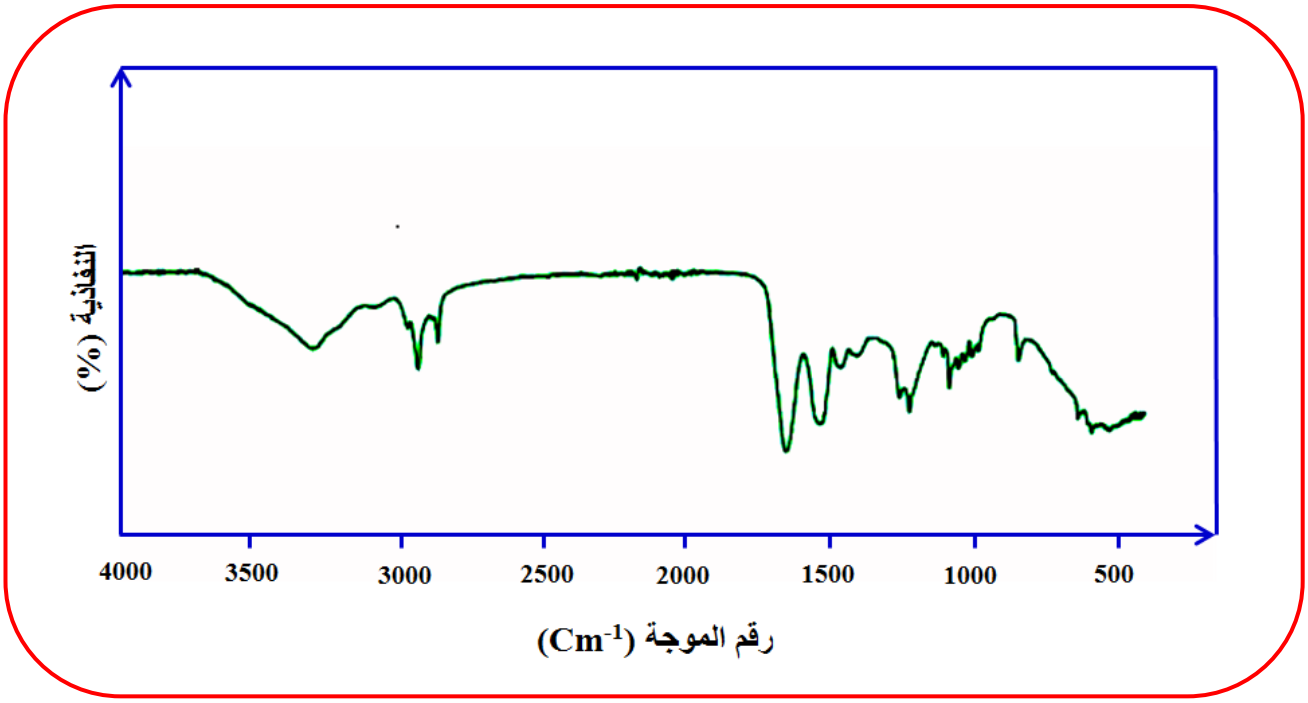
8.IV. طريقة العمل:

تم تحليل عينات الكيراتين في جهاز IR-ATR بطريقة مباشرة سهلة. حيث تم وضع العينات في مكان وضع العينة، ثم يتم ضغط الذراع على العينة الصلبة، لتتم قراءة البيانات و المعطيات الطيفية بصورة مباشرة كما في **الشكل(IV-8)** التالي:

الشكل (IV-8): طريقة وضع العينة في جهاز IR-ATR .

9.IV.توصيف الكيراتين بواسطة الأشعة تحت الحمراء:

حسب الدارسات السابقة لـ Shavandi وآخرون (2017)[9]، يبين **الشكل (9-IV)** طيف الأشعة تحت الحمراء للكيراتين المستخرج من صوف الغنم، حيث يظهر نطاق الإمتصاص الذي ينسب إلى الروابط الببتيد(CONH) ، بحيث ينشأ الإهتزاز في روابط الببتيد عن مجموعات تعرف بإسم مجموعة الأميد amide A و amide I و amide II و amide III ، وكانت مناطق الإمتصاص لمجموعات amide كالآتي ($C=O$ Amide I : $1642cm^{-1}$، $N–H$ amide A: $3277cm^{-1}$) وهي تبين ($N – H$; $C–N$ amide III:$1233cm^{-1}$ ، $N–H$ Amide II : $1580–1480cm^{-1}$، أن هناك نسبة من الأحماض الأمينية التي تدخل في تركيب بروتين الكيراتين، مما يشير وجود الرابطة $N – H$ الممتد عند $3277\ cm^{-1}$ أيضًا إلى البنية المطوية والحلزونية (α- hélice) للكيراتين.



الشكل (9-IV): يوضح منحنى الأشعة تحت الحمراء للكيراتين[9].

كما تظهر قمم الإمتصاص عند $1021cm^{-1}$ و $1076\ cm^{-1}$ للإهتزازات متمددة لروابط الغير المتماثلة والمتناظرة لرابطة S–O من بقايا cysteine-S-sulfonate والتي تشكلت نتيجة تفاعل الكبريتات والسيستين أثناء عملية إستخلاص البروتين، بينما تواجد أميداتI و II في نطاق $1642cm^{-1}$ و $1543cm^{-1}$ ، مما يشير إلى وجود بنية حلزونية ألفا ، بينما بالنسبة للورقة بيتا توضحها وجود الروابط بين $1635\text{-}1615\ cm^{-1}$ و $1530\text{-}1520\ cm^{-1}$.

المراجع:

المراجع العربية:

[2] د. عبد العليم سليمان أبو المجد، "التحليل الطيفي باستخدام الأشعة تحت الحمراء"، الأكاديمية الحديثة للكتاب الجامعي، 2011.

[3] د.عبد المنعم محمد السيد الاعسر، "التحليل الطيفي للأنظمة الكيميائية و البيوكيميائية"، الطبعة الثانية، الدار العربية للنشر والتوزيع ، القاهرة، 2000.

[4] المؤسسة العامة للتدريب التقني و المهني، "طرق التحليل الطيفي تخصص مختبرات كيميائية"، المملكة العربية السعودية، ص 30-33، 2010.

[5] د. بشار عبد العزيز محمود، "محاضرات في الكيمياء التحليلية"، جامعة الأنبار: كلية التربية للعلوم الصرفة، 2016.

المراجع الأجنبية:

[1] A. Naumann, S. Peddireddi, U. Kües, A. J. W. p. Polle, wood technology ",10. Fourier Transform Infrared Microscopy in Wood Analysis", p. 179, 2007.

[6] M. Billerica, "Attenuated Total Reflection (ATR)–a versatile tool for FT-IR spectroscopy," 2011.

[7] "ATR – Theory and Applications (Application Notes)", Retrieved from PIKE Technologies Available: http://www.piketech.com/files/pdfs/PIKE_ATR_Theory-Applications.pdf.(site 2016).

[8] P. Elmer, "FTIR Spectroscopy Attenuated Total; Reflectance (ATR), Technical note", vol. 15, p. 2013, 2.005

[9] A. Shavandi, A. E.-D. A. Bekhit, A. Carne, and A. Bekhit, "Evaluation of keratin extraction from wool by chemical methods for bio-polymer application", J Journal of bioactive compatible polymers, vol. 32, no. 2, pp. 163-177, 2017.

الفصل الخامس:
النتائج و المناقشة

V .النتائج و المناقشة:

في هذا العمل أجرينا مرحلتان لإجراء دراسة المتغيرات التي لها تأثير في تفاعل إستخلاص الكيراتين من صوف الغنم، وقد تم إستخدام التصميم التجريبي لهذا الغرض بمساعدة البرنامج "Design-Expert"، و كان نوع التصميم التجريبي المعتمدة هي طريقة الإستجابة السطحية "RSM" و الخطة التي تلبي إحتياجات دراستنا هي خطة "Box-Behnken".

توفر هذه النماذج الإحصائية وسيلة فعالة لتقييم تأثير وآثار المتغيرات، كما تم عرض نتائج النمذجة الإحصائية التي تم الحصول عليها فيما يلي:

- **المرحلة الأولى:** تم دراسة تأثير تركيز الثيوريا (CH_4N_2S) مع تغيير في درجة الحرارة و وقت التفاعل على المردود الكلي.
- **المرحلة الثانية:** تم دراسة تأثير تركيز بيروكبريتيت الصوديوم ($Na_2O_5S_2$) مع تغيير في درجة الحرارة و وقت التفاعل على المردود الكلي.

كما ننوه أنه في كلتا المرحلتين يتم تثبيت تركيز أحدهم (الثيوريا8 % ، بيروكبريتيت الصوديوم 0. 5%) و تهدف هذه الدراسة في مجملها إلى تحسين المردود كما هو مبين فيما يأتي:

1.V. نتائج المرحلة الأولى:

1.1.V. إعداد التصميم التجريبي:

2.1.V. الأهداف:

الهدف من عملنا هذا هو تطبيق نموذج إحصائي يسمى خطة "Box-Behnken" على العوامل الرئيسية المتعلقة بما يلي:

- تحديد الإجابة المختارة.
- تحديد القيم المثلى للمتغيرات المختلفة من خلال تطبيق طريقة الإستجابة السطحية (RSM).
- العمل على زيادة قيمة المردود.

V.3.1. تحديد المتغيرات و مجال الدراسة:

أخذنا في عملنا هذا بعين الإعتبار ثلاث متغيرات يمكن إحتمالية تأثيرها في مسار تفاعل إستخراج الكيراتين من الصوف، و يتم تحديد هذه المتغيرات بالإضافة إلى مجال إختلاف قيمها الدنيا والقصوى كما هو مبين في **الجدول (V-1)**.

الجدول (V-1): المتغيرات و مجال الدراسة لخطة Box-Behnken.

العوامل	الرموز	مستوى		
		-1.0	0.0	1.0
تركيز ثيوريا (%) (CH_4N_2S)	X_1	1	5	9
درجة الحرارة (°C)	X_2	25	50	75
الوقت (h)	X_3	1	2	3

لقد اخترنا في هذا العمل خطة Box-Behnken و قد كان الدافع من وراء هذا الإختيار هو التكلفة المنخفضة ولذلك يجب علينا حساب 13 تجربة، و كانت الإستجابة المختارة للدراسة هو معدل إستخلاص الكيراتين من الصوف و المتمثل في المردود (%).

4.1.V. نمذجة الإستجابة:

تم الإعتماد على خطة Box-Behnken لثلاث عوامل و التي تتكون من 13 إختبارًا بما في ذلك ثلاث في وسط المجال (التجربة رقم 2 و 5 و 12)، كما ستخضع هذه البيانات للمعالجة الإحصائية بإستخدام برنامج Design–Expert، لتقدير تأثير المتغيرات، كذلك للحصول على نموذج رياضي كما هو موضح في **الجدول (V–2)**.

الجدول (V–2): خطة Box-Behnken مع الإستجابة التجريبية (الوحدة غير مشفرة).

العينة	تركيز الثيوريا(%) (CH_4N_2S)	درجة الحرارة(°C)	الوقت(h)	المردود العملي(%)
1	5	75	1	51
2	5	50	2	88.85
3	1	50	3	33.85
4	9	50	3	73.05
5	5	50	2	88.85
6	5	75	3	96.7
7	1	25	2	46.45
8	9	50	1	41.8
9	5	25	1	33.71
10	9	25	2	51.1
11	1	75	2	36
12	5	50	2	88.85
13	5	25	3	55.1

5.1.V. النتائج الإحصائية وتفسيرها:

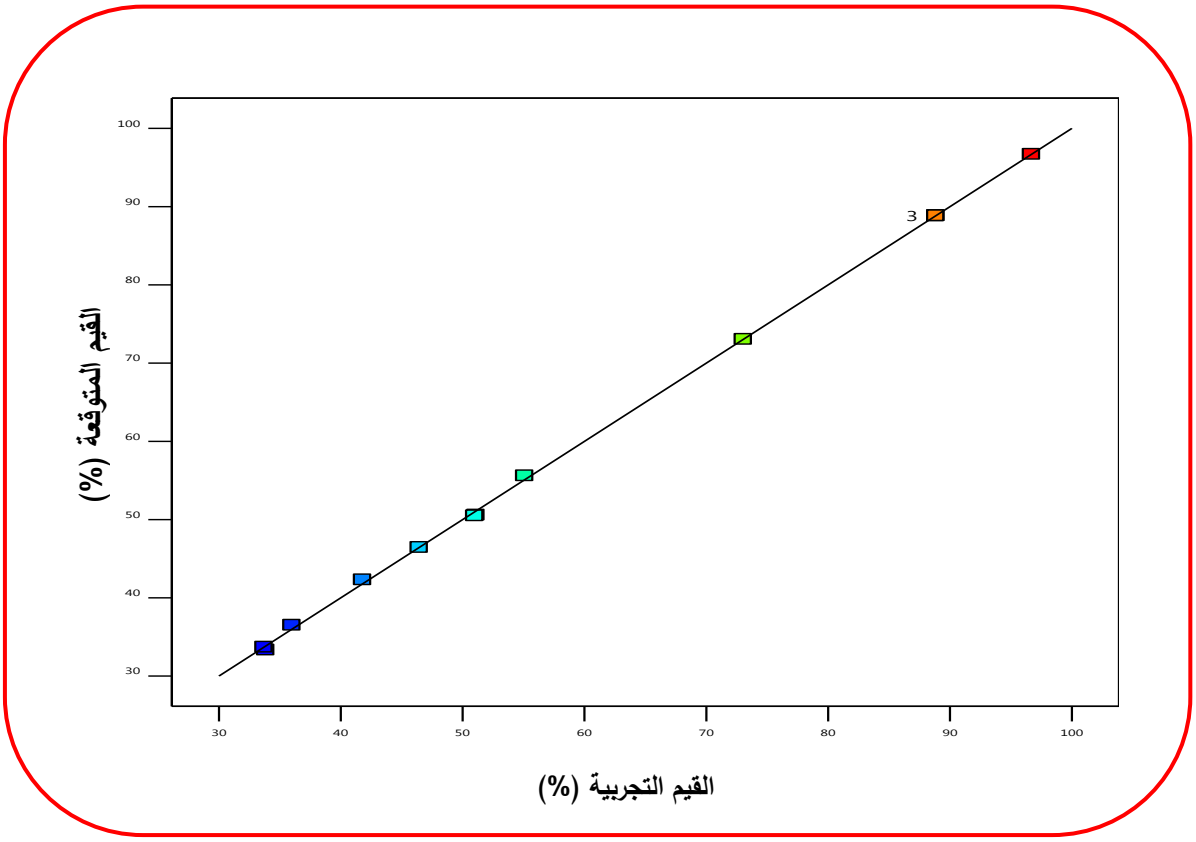
1.5.1.V. النموذج الرياضي:

تم فحص تأثير المتغيرات الثلاث على مردود الكيراتين (R_1 %)، و تم إنشاء البيانات التي تحصلنا عليها بواسطة خطة Box-Behnken في نموذج تربيعي كدالة للإستجابة و المعبر عنها بالمعادلة الرياضية التالية:

$$\mathbf{R_1}\ \%\ (\text{المردود}) = -89.28914 + 11.74182\ \mathbf{X_1} - 0.647225\ \mathbf{X_2} + 120.02646\ \mathbf{X_3} + 0.194392\ \mathbf{X_1{*}X_2} - 0.413958\mathbf{X_1{*}X_3} + 0.243100\ \mathbf{X_2{*}X_3} - 1.52560\ \mathbf{X_1}^2 - 0.002322\ \mathbf{X_2}^2 - 28.27125\ \mathbf{X_3}^2$$

و بناءا على النموذج الرياضي المتحصل عليه تمت المقارنة بين قيم المردود المتحصل عليها مخبريا أي تجريبيا و قيم المردود المتوقعة من طرف النموذج الرياضي بواسطة البرنامج الإحصائي المشار إليه في السابق.

يوضح **الشكل (V-1)** المقارنة بين القيم التجريبية للمردود ($\%R_1$) والقيم المحسوبة بواسطة نموذج التنبؤ، ويبدو أن القيم التجريبية والقيم المقدرة قريبة جدًا، لذلك يمكن إستخدام الإنحدار الخطي مع مسار تفاعل إستخلاص الكيراتين.



الشكل (V-1): مقارنة بين القيم التجريبية والمتوقعة لـ R_1 %.

كما يوضح **الجدول (V-3)** قيم المردود R_1% التجريبية والمتوقعة من طرف نموذج التنبؤ لكل تجربة على حدى و هو ما يؤكد خطية النموذج الرياضي.

الجدول (V-3): يبين القيم التجريبية و المتوقعة للمردود لكل تجربة.

العينة	تركيز الثيوريا(CH_4N_2S) (%)	درجةالحرارة (°C)	الوقــت (h)	المردود التجريبي (%)	المردود المتوقع (%)
1	5	75	1	51	50.49
2	5	50	2	88.85	88.85
3	1	50	3	33.85	33.34
4	9	50	3	73.05	73.05
5	5	50	2	88.85	88.85
6	5	75	3	96.7	96.70
7	1	25	2	46.45	46.45
8	9	50	1	41.8	42.31
9	5	25	1	33.71	33.71
10	9	25	2	51.1	50.59
11	1	75	2	36	36.51
12	5	50	2	88.85	88.85
13	5	25	3	55.1	55.61

V.2.5.1. تحليل التباين:

تعطي المعالجة الإحصائية للإستجابة وفقًا لخطة Box-Behnken النتائج الممثلة في جدول تحليل التباين (ANOVA) .

الجدول (V- 4) : يبين تحليل التباين لإستجابة المردود%.

المصدر	SS	DL	MC	F-valeur	P-valeur	الملاحظة
نموذج التنبؤ	6660.49	9	740.05	1431.98	< 0.0001	Significant
X_1	1233.81	1	1233.81	2387.38	< 0.0001	Significant
X_2	1004.80	1	1004.80	1944.25	< 0.0001	Significant
X_3	1391.56	1	1391.56	2692.61	< 0.0001	Significant
$X_1 X_2$	647.80	1	647.80	1253.46	< 0.0001	Significant
$X_1 X_3$	4.70	1	4.70	9.09	0.0570	Non Significant
$X_2 X_3$	147.74	1	147.74	285.88	0.0005	Significant
X_1^2	1682.34	1	1682.34	3255.26	< 0.0001	Significant
X_2^2	4.04	1	4.04	7.82	0.0680	Non Significant
X_3^2	1534.59	1	1534.59	2969.37	< 0.0001	Significant
Residual	1.55	3	0.5168	-	-	-
Lack of Fit	1.55	1	1.55	0.61	0.74	Non Significant
Pure Error	0.0000	2	0.0000	-	-	-
Cor Total	6662.04	12	-	-	-	-
R_1^2	0.9998	-	-	-	-	-
R_1^2 Adj	0.9991	-	-	-	-	-

حيث:

SS: مجموع المربعات، DL : درجة الحرية، MC : متوسط مجموع المربعات أو التباين، R^2 : معامل الانحدار، Lack of Fit : خطأ في النموذج، Pure Error : الخطأ الناتج عن المجرب، F -Value: قيمة فيشر، P-Value: القيمة الإحتمالية.

تشير قيمة معامل الإنحدار الخطي إلى $R_1^2 = 0.9998$ تطابق تام بين القيمة المتوقعة والقيمة المتحصل عليها تجريبيا للمردود كما هو موضح في **الجدول (V- 4)** بالإضافة إلى قيمة R_1^2 المعدلة = 0.9991 كانت قريبة جدا من 1، مما يؤكد أيضًا أن النموذج معدّل بشكل جيد للغاية، كما أن النموذج مهم لأن قيمة التباين (F-valeur) للنموذج تساوي 1431.98 و كذلك قيمة الإحتمالية (P-value) التي هي أقل من 0.05 (p< 0.0001).

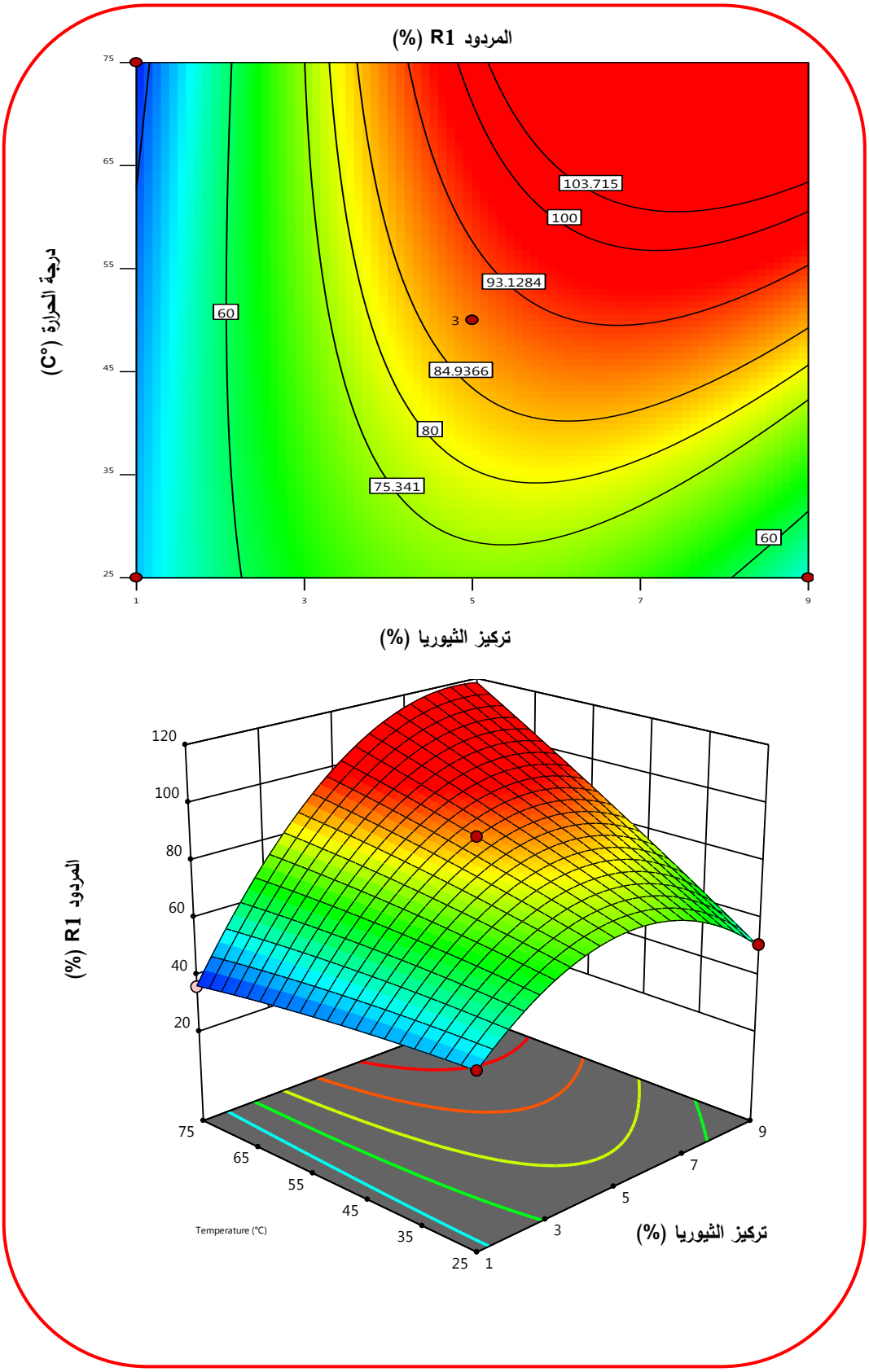
و علاوة على ذلك، فإن جميع التأثيرات الخطية لها قيم (P-value) <0.05 مما يشير إلى وجود تأثير خطي كبير للمتغيرات الرئيسية على المردود كما هو موضح في **الجدول (V- 4)**: X_1 و X_2 و X_3 كانت قيمة P-value <0.05.

كما أن قيم P-Value التي تم الحصول عليها للتأثير بين المتغيرات X_1X_2 و X_2X_3 أقل 0.01> P-value، و بالنسبة للمتغيريين X_1X_3 تحصلنا على قيمة الإحتمالية P-value = 0.0570 حيث توضح أن تأثير بينها على المردود كان ضعيفا، والقيم المربعة للمتغيرين ${X_1}^2$ و ${X_3}^2$ مهمة أيضًا. ولكن قيمة ${X_2}^2$ الأقل تأثيراً لأن قيمة الإحتمالية كانت كبيرة عن ما هو مطلوب P-value = 0.0680.

V.3.5.1. تحسين الإستجابة:

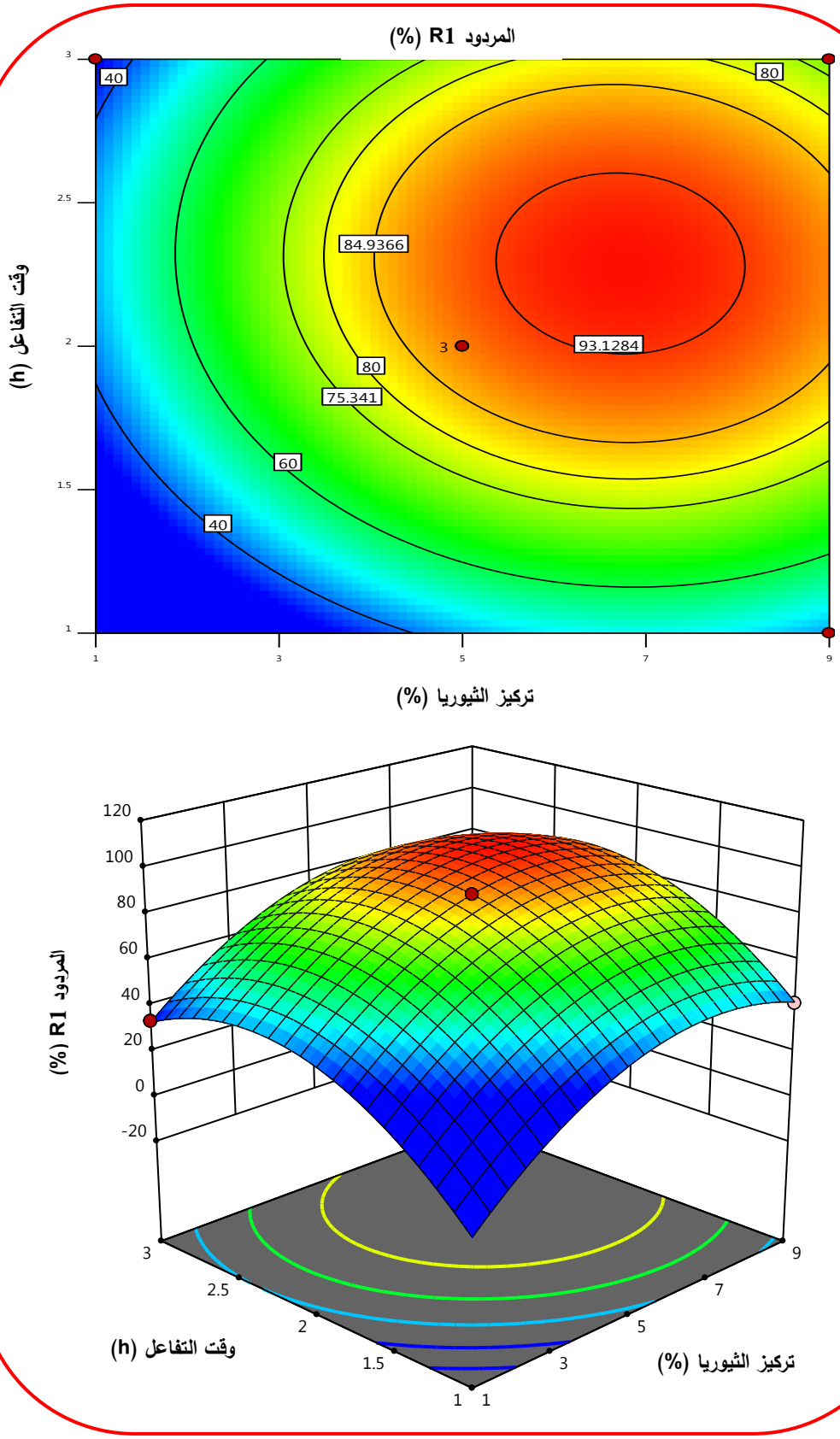
الخطوة ما قبل الأخيرة هي إيجاد قيم المتغيرات التي تعطي الإستجابة المثلى، من النموذج الرياضي المتحصل عليه إستخدام البرنامج الإحصائي، وعليه تم الحصول على الشكل ثنائي الأبعاد التي يتم إنشاؤها بواسطة برنامج Design–Expert من خلال الجمع بين العوامل الثلاثة و الإستجابة التي تعبر عنها بالمردود.

في كل مرة يتم تعيين أحد العوامل على ثلاث مستويات، عالية ومنخفضة ومتوسطة ، ويتم تقييم الإستجابة (المحور z) بالنسبة إلى الاثنين الآخرين (المحور x والمحور y) على الشكل ثلاثي الأبعاد. كما تسمح لنا هذه الأشكال بالبحث عن الظروف المثلى الأكثر توقعا و محاكاة للعمل التجريبي.



الشكل (V-2): يبين تأثير تركيز الثيوريا ودرجة الحرارة على المردود%.

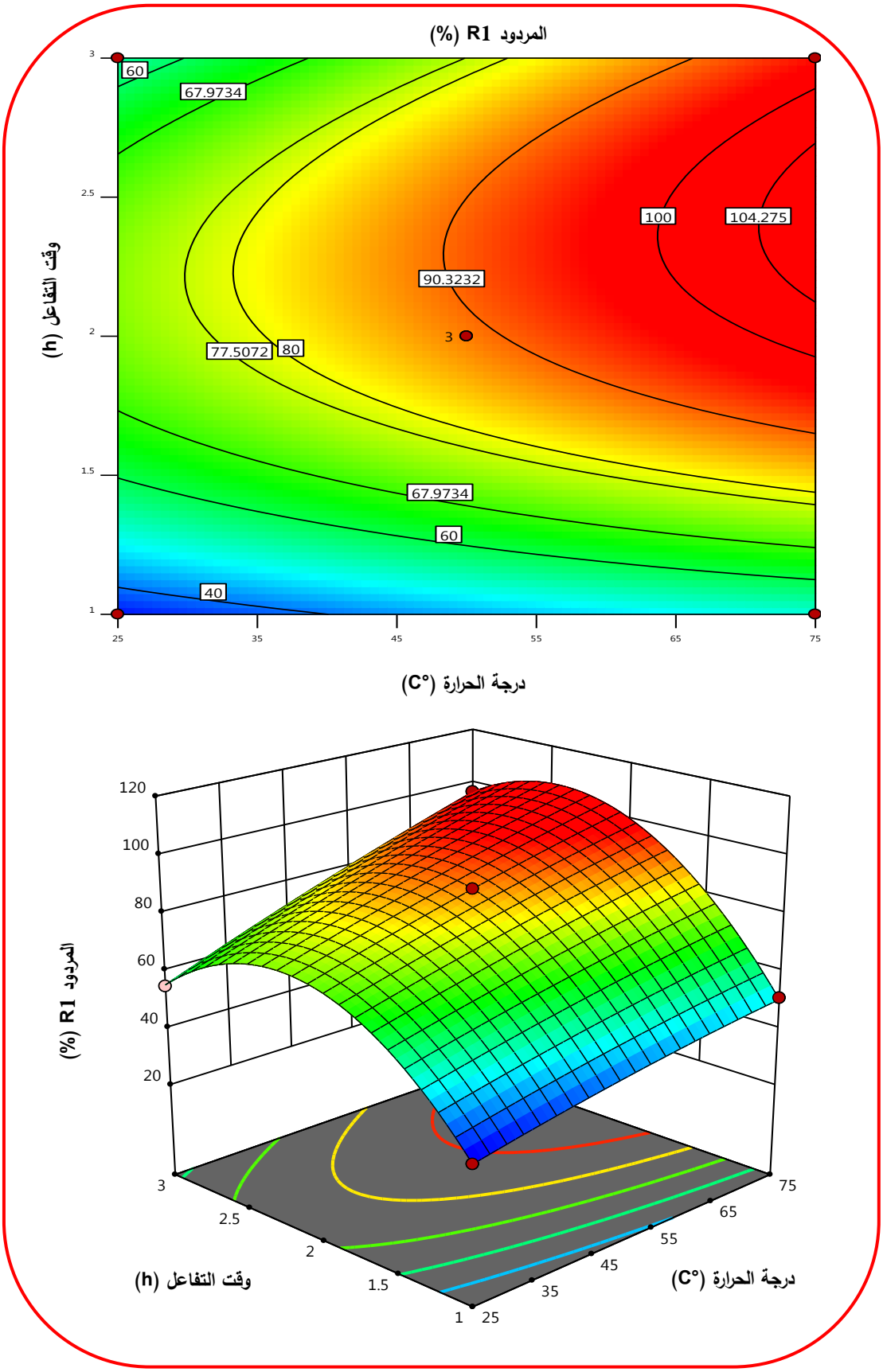
يوضح **الشكل (V-2)** تأثير المتغيرات المختلفة و تفاعلاتها عموما، حيث يكشف التفاعلات بين تركيز ثيوريا(X_1) ودرجة الحرارة (X_2) الموضحة في **الشكل (V-2)** تأثيرًا كبيرًا لدرجة الحرارة على قيمة المردود (%)، بحيث عند تركيز منخفض للثيوريا(X_1) ما بين 1% و 4% تنخفض نسبة المردود (%) حيث تكون درجة الحرارة حوالي 50 درجة مئوية أو أقل، ومع ذلك يكون تأثير الثيوريا ضئيل على المردود (%) عند التركيزات المنخفضة من الثيوريا (X_1) ، و عكس فإن زيادة في تركيز الثيوريا $(X_1) > 5$ % تشير إلى زيادة المردود (%).



الشكل(V-3): يبين تأثير تركيز الثيوريا و وقت التفاعل على المردود%.

من ناحية أخرى يوضح **الشكل(V-3)** التفاعل بين تركيز الثيوريا (X_1) والوقت (X_3)، وتكون التأثيرات أكثر أهمية على تفاعل إستخلاص الكيراتين بعد وقت $2 < X_3 > 2.5h$ بتركيز أكبر من 5% للثيوريا، و كذلك يكون تركيز الثيوريا أقل من 8.5% للحصول على قيمة كبيرة للمردود.

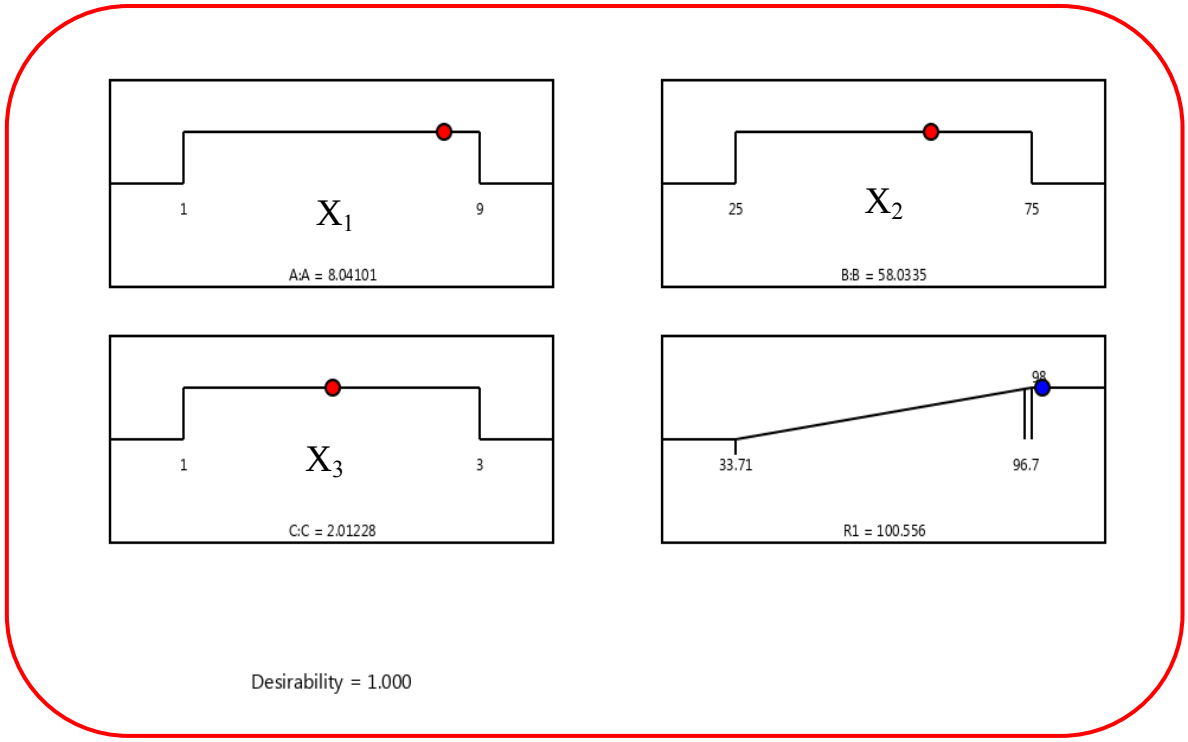
علاوة على ذلك ، لوحظ تأثير لوقت التفاعل لإستخراج الكيراتين (X_3) ودرجة الحرارة (X_2)، بحيث يكون عند درجة حرارة أعلى ($X_2 > 55\ °C$) ووقت أكبر لـ ($X_3 > 2h$) يكون له تأثير كبيرة في زيادة المردود(%) ، على عكس القيم الأقل لوحظ تأثير أضعف كما هو مبين **الشكل (V-4)**.



الشكل (V-4) : يبين تأثير تركيز درجة الحرارة و وقت التفاعل على المردود %.

4.5.1.V. القيم المثلى المتوقعة للمتغيرات لنموذج التنبؤ:

تم الحصول على القيم المثلى المتوقع من النموذج الرياضي للتنبؤ و ذلك من خلال إجراء حساب التصميم الإحصائي التكميلي تحت نفس الظروف التجريبية؛ بحيث كانت قيمة الإستحقاق تساوي 1 و هو ما يوضحه **الشكل (5-V)** ، تتوافق قيمة المثلى لمردود (R1=100.55%) المتوقع التي تم الحصول عليها مع تركيز الثيوريا(X_1) 8.04%، ودرجة الحرارة (X_2) 58.03 °C، ووقت التفاعل (X_3) 2 ساعة.



الشكل (5-V): الظروف المثلى المتوقعة بطريقة RSM .

V.2. نتائج المرحلة الثانية:

V.2.1. إعداد التصميم التجريبي:

V.2.2. الأهداف:

الهدف من عملنا في المرحلة الثانية هو تطبيق نموذج إحصائي لخطة "Box-Behnken" على العوامل الرئيسية المتعلقة بما يلي:

- تحديد الإجابة المختارة.
- تحديد القيم المثلى للمتغيرات المختلفة من خلال تطبيق طريقة الإستجابة السطحية (RSM).
- العمل على زيادة قيمة المردود.

V.2.3. تحديد المتغيرات و مجال الدراسة:

تم تحديد ثلاث متغيرات وهي تركيز بيروكبريتيت الصوديوم ودرجة الحرارة والوقت مع مجال اختلاف قيمها الدنيا والقصوى كما هو موضح في **الجدول (V-5).**

الجدول (V-5): المتغيرات و مجال الدراسة لخطة Box-Behnken.

العوامل	الرموز	مستوى		
		-1.0	0.0	1.0
تركيز بيروكبريتيت الصوديوم ($Na_2O_5S_2$) (%)	$x1$	0.5	0.75	1
درجة الحرارة (°C)	x_2	25	40	55
الوقت (h)	x_3	0.5	1.25	2

4.2.V. نمذجة الإستجابة:

تم الإعتماد على خطة Box-Behnken لثلاث عوامل و التي تتكون من 15 إختبارًا بما في ذلك ثلاث في وسط المجال (التجربة رقم 13 و 14 و 15) ،كما ستخضع هذه البيانات للمعالجة الإحصائية بإستخدام برنامج Design–Expert، لتقدير تأثير المتغيرات، كذلك للحصول على نموذج رياضي كما هو موضح في **الجدول (V–6)**.

الجدول (V–6): خطة Box-Behnken مع الإستجابة التجريبية (الوحدة غير مشفرة).

العينة	تركيز بيروكبريتيت الصوديوم ($Na_2O_5S_2$) (%)	درجة الحرارة(°C)	الوقت(h)	المردود العملي(%)
1	0.5	25	1.25	55.48
2	1	25	1.25	29.12
3	0.5	55	1.25	1.74
4	1	55	1.25	81.61
5	0.5	40	0.5	56.47
6	1	40	0.5	71.01
7	0.5	40	2	20.29
8	1	40	2	68.97
9	0.75	25	0.5	47.21
10	0.75	55	0.5	44
11	0.75	25	2	37.66
12	0.75	55	2	44.36
13	0.75	40	1.25	43.39
14	0.75	40	1.25	43.17
15	0.75	40	1.25	43.53

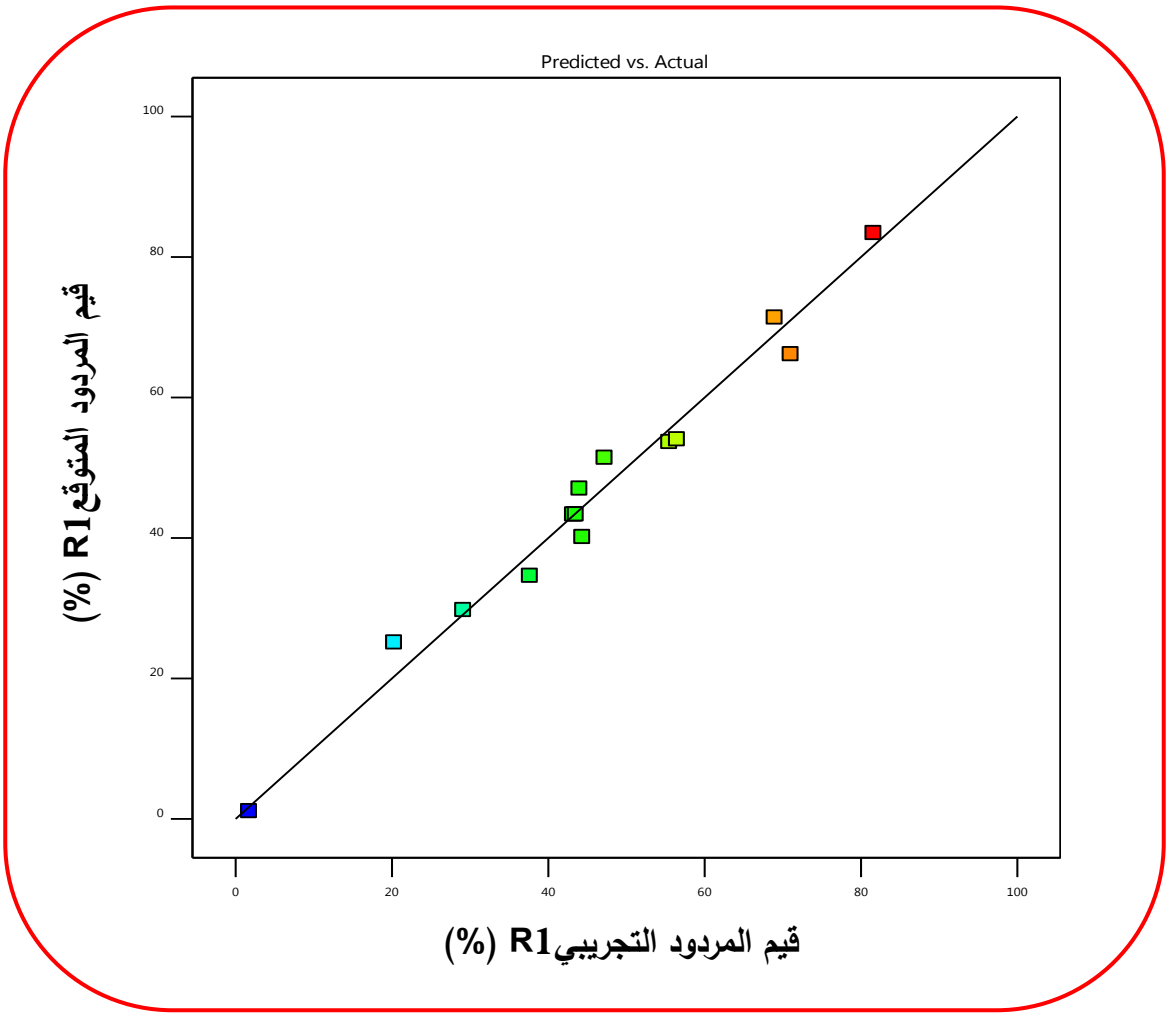
V.5.2. النتائج الإحصائية وتفسيرها:

V.5.2.1. النموذج الرياضي:

تم إنشاء البيانات في مرحلة الثانية التي تعتمد على ثلاث متغيرات وهي تركيز بيروكبريتيت الصوديوم و درجة الحرارة و وقت التفاعل و التي تم حصول عليها بواسطة خطة Box-Behnken المعبر عنها بالمعادلة الرياضية التالية:

$$\mathbf{R}_2\ \%\ (\text{المردود}) = +290.91963 - 395.83500x_1 - 3.38974x_2 - 77.83204\ x_3 + 7.08200x_1{*}x_2 + 45.52000x_1{*}x_3 + 0.220222x_2{*}x_3 + 76.01333{x_1}^2 - 0.027230\ {x_2}^2 + 10.79259{x_3}^2$$

يوضح **الشكل (V-6)** المقارنة بين القيم التجريبية للمردود ($\%R_2$) والقيم المحسوبة بواسطة نموذج التنبؤ، بحيث نلاحظ أن القيم التجريبية والقيم المقدرة قريبة جدا، ولذلك يمكن إستخدام الإنحدار الخطي مع مسار تفاعل إستخلاص الكيراتين.



الشكل (V-6): مقارنة بين القيم التجريبية والمتوقعة لـ R_2 %.

كما يوضح **الجدول (V-7)** قيم المردود R_2% التجريبية والمتوقعة من طرف نموذج التنبؤ لكل تجربة على حدى و هو ما يؤكد خطية النموذج الرياضي.

الجدول (V-7): يبين القيم التجريبية و المتوقعة للمردود لكل تجربة.

العينة	بيروكبريتيت الصوديوم ($Na_2O_5S_2$) (%)	درجةالحرارة (°C)	الوقــت (h)	المردود التجريبي (%)	المردود المتوقع (%)
1	0.5	25	1.25	55.48	53.67
2	1	25	1.25	29.12	29.74
3	0.5	55	1.25	37.66	34.62
4	1	55	1.25	81.61	81.42
5	0.5	40	0.5	56.47	54.06
6	1	40	0.5	71.01	66.17
7	0.5	40	2	20.29	25.13
8	1	40	2	68.97	71.39
9	0.75	25	0.5	47.21	51.43
10	0.75	55	0.5	20.29	25.13
11	0.75	25	2	1.74	1.12
12	0.75	55	2	44.36	40.14
13	0.75	40	1.25	66.17	71.01
14	0.75	40	1.25	43.17	43.36
15	0.75	40	1.25	81.61	83.42

V.2.5.2. تحليل التباين:

تعطي المعالجة الإحصائية للإستجابة وفقًا لخطة Box-Behnken النتائج الممثلة في جدول تحليل التباين (ANOVA) .

الجدول (V-8) : يبين تحليل التباين لإستجابة المردود%.

المصدر	SS	DL	MC	F-valeur	P-valeur	الملاحظة
نموذج التنبؤ	5503.94	9	611.55	25.48	0.0012	significant
x_1	1703.24	1	1703.24	70.97	0.0004	-
x_2	0.6272	1	0.6272	0.0261	0.8779	-
x_3	280.96	1	280.96	11.71	0.0188	-
x_1x_2	2821.20	1	2821.20	117.55	0.0001	-
x_1x_3	291.38	1	291.38	12.14	0.0176	-
x_2x_3	24.55	1	24.55	1.02	0.3582	-
x_1^2	83.34	1	83.34	3.47	0.1214	-
x_2^2	138.59	1	138.59	5.77	0.0614	-
x_3^2	136.08	1	136.08	5.67	0.0631	-
Residual	120.00	5	24.00	-	-	-
Lack of Fit	119.94	3	39.98	1213.93	0.0008	significant
Pure Error	0.0659	2	0.0329		-	-
Cor Total	5623.94	14	-	-	-	-
R_2^2	0.9787	-	-	-	-	-
R_2^2 Adj	0.9403	-	-	-	-	-

حيث:

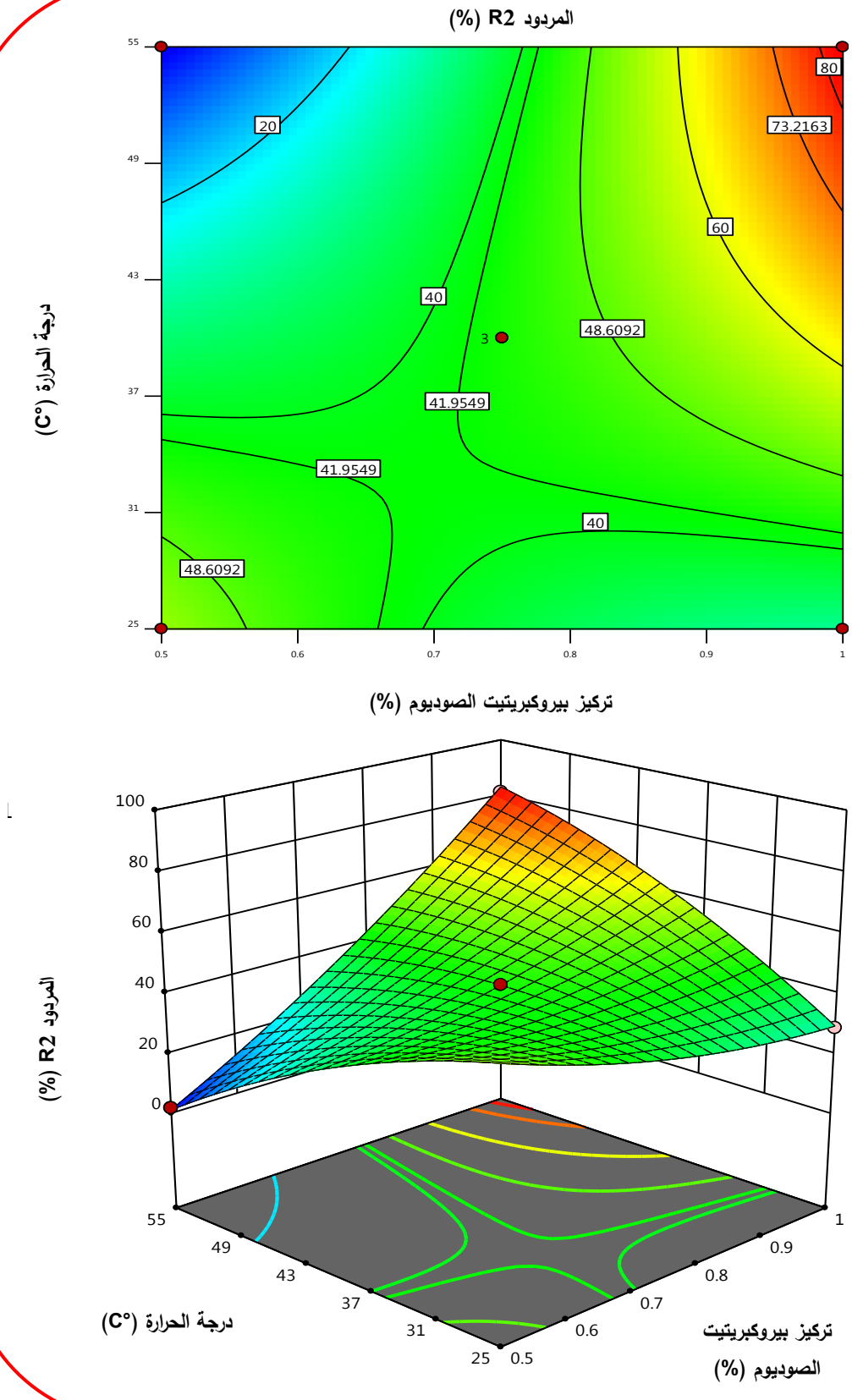
SS: مجموع المربعات، DL : درجة الحرية، MC : متوسط مجموع المربعات أو التباين، R^2 : معامل الانحدار، Lack of Fit : خطأ في النموذج، Pure Error : الخطأ الناتج عن المجرب، F -Value: قيمة فيشر، P-Value: القيمة الإحتمالية.

تشير قيمة معامل الإنحدار الخطي إلى $R^2 = 0.9787$ التي تعكس التقارب بين القيمة المتوقعة والقيمة المتحصل عليها تجريبيا للمردود كما هو موضح في **الجدول (V-8)** بالإضافة إلى قيمة R^2 المعدلة = 0.9403، مما يؤكد أيضًا أن النموذج معدّل بشكل جيد، كما أن النموذج مهم لأن قيمة التباين (F-valeur) للنموذج تساوي 25.48 و كذلك قيمة الإحتمالية (P-value) أقل من(P-value < 0.05 (0.0012.

و من ناحية أخرى، فإن جميع التأثيرات الخطية لها قيم P-value <0.05 مما يشير إلى وجود تأثير خطي كبير للمتغيرات الرئيسية على المردود كما هو موضح في **الجدول (V-8)**: x_1 و x_3 كانت قيمة P-value <0.05، وبالنسبة لمتغير x_2 تحصلنا على قيمة P-value = 0.8779 حيث توضح تأثير ضعيف جدا على المردود.

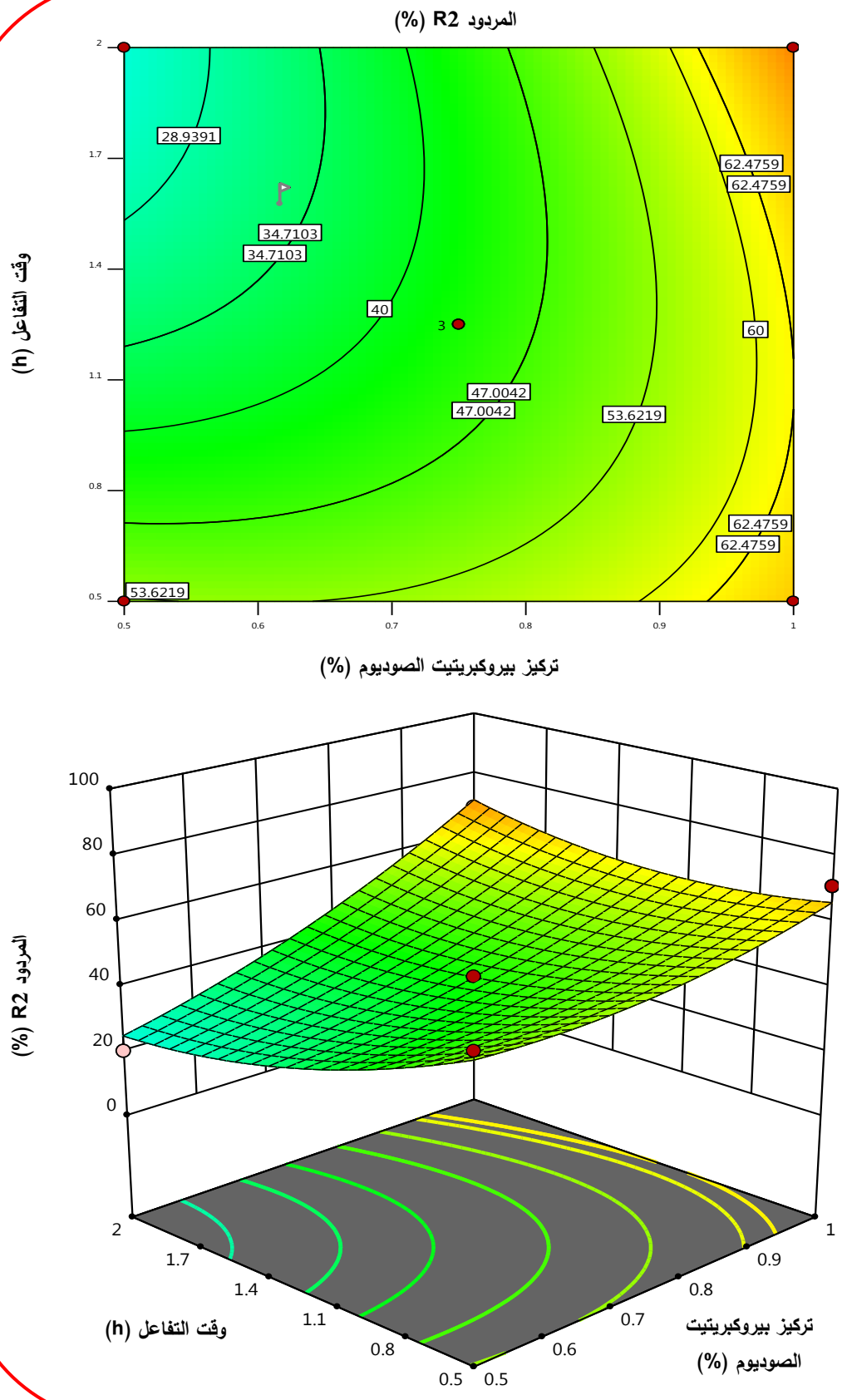
كما أن قيم P-Value التي تم الحصول عليها للتأثير بين المتغيرات x_1x_2 و x_1x_3 أقل P-value <0.01، وبالنسبة للمتغيريين x_2x_3 تحصلنا على قيمة الإحتمالية P-value = 0.3582 حيث تشير أن تأثير بينها على المردود كان ضعيفا، والقيم المربعة للمتغيرات ${x_1}^2$ و ${x_2}^2$ و ${x_3}^2$ الأقل تأثيراً لأن قيم الإحتمالية كانت كبيرة عن ما هو مطلوب.

V.3.5.2. تحسين الإستجابة:



الشكل (V-7): يبين تأثير تركيز بيروكبريتيت الصوديوم ودرجة الحرارة على المردود%.

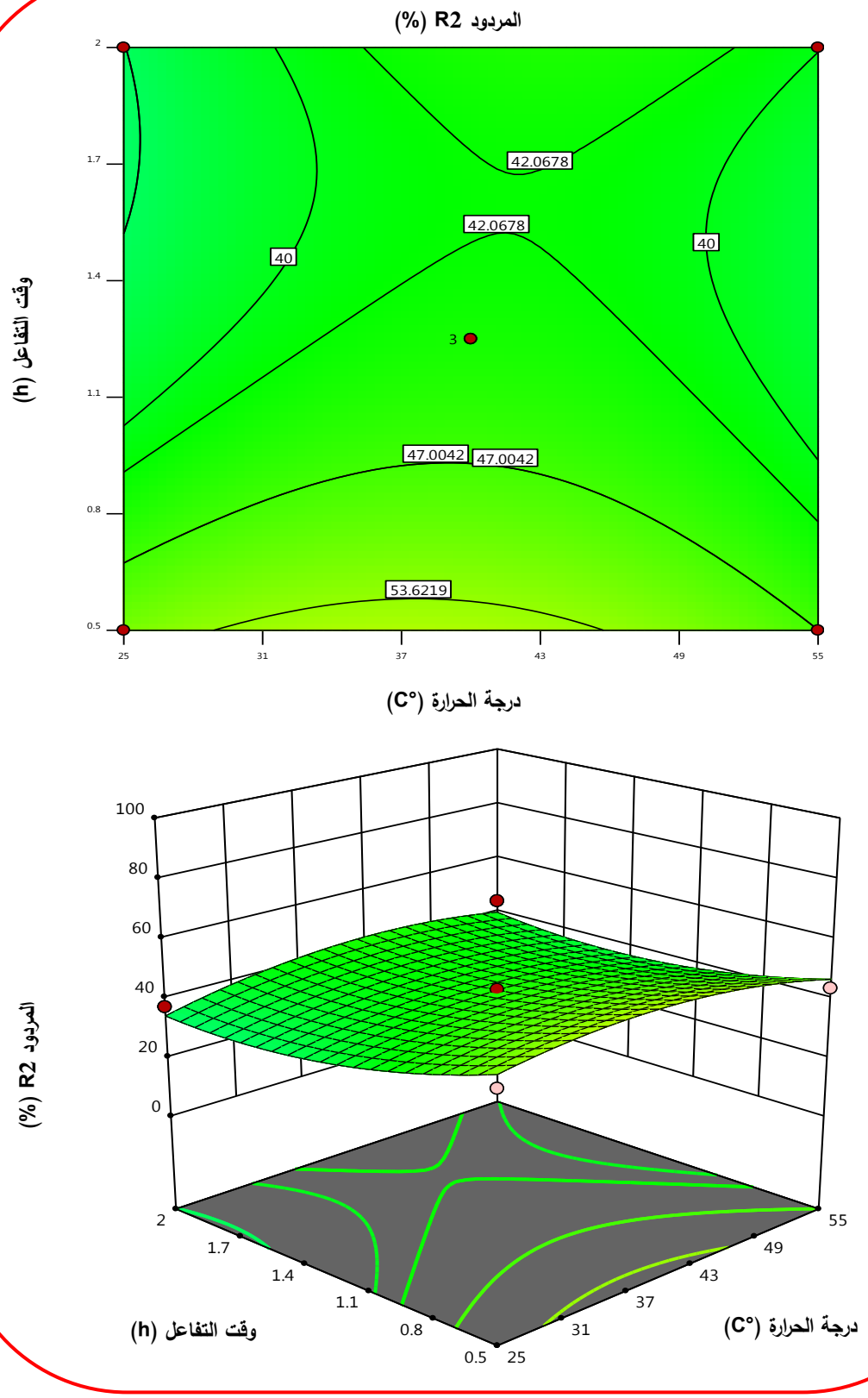
يوضح **الشكل (V-7)** تأثير المتغيرات بحيث يكشف التأثير بين تركيز بيروكبريتيت الصوديوم (x_1) ودرجة الحرارة (x_2) كما هو موضح في **الشكل (V-7)**، وهو ما نلاحظه في زيادة نسبة المردود (%) عند تركيز بيروكبريتيت الصوديو (x_1) ما بين 0.95% و 1% ودرجة الحرارة أكبر من 48 درجة مئوية، وتنخفض نسبة المردود(%) عند التراكيز المنخفضة من بيروكبريتيت الصوديوم (x_1) أقل من 0.95% و عند درجة الحرارة أقل من 45 درجة مئوية.



الشكل(V-8): يبين تأثير تركيز بيروكبريتيت الصوديوم و وقت التفاعل على المردود%.

من جهة أخرى يوضح **الشكل(V-8)** نلاحظ عدم تأثير بين المتغيرين تركيز بيروكبريتيت الصوديوم (x_1) والوقت (x_3) على المردود، و عند تركيز بيروكبريتيت الصوديوم(x_1) أقل من 0.95 % نسجل إنخفاض في نسبة المردود(%)، و عكس فإن زيادة في تركيز بيروكبريتيت الصوديوم $(x_1) > 0.95$ % تشير إلى زيادة المردود (%).

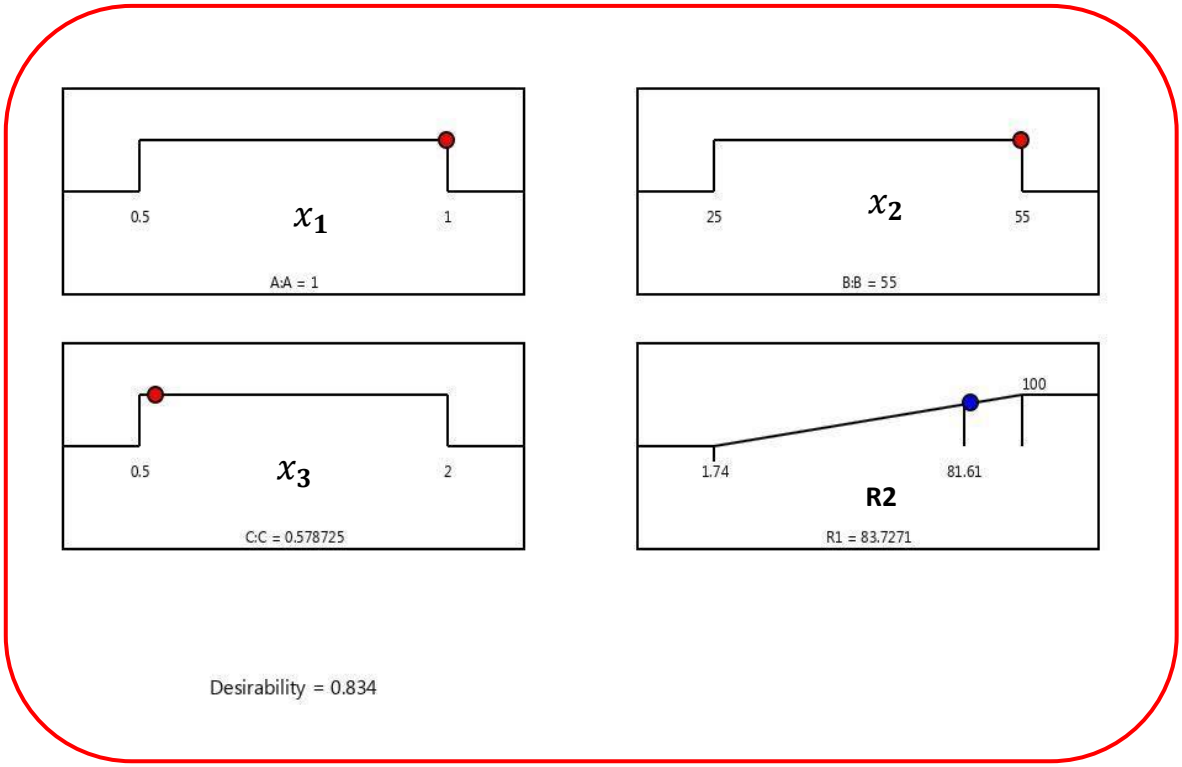
علاوة على ذلك، لوحظ عدم تأثير لوقت التفاعل لإستخراج الكيراتين (x_3) ودرجة الحرارة (x_2) على المردود(%) ، كما هو مبين **الشكل (V-9)**.



الشكل (V-9) : يبين تأثير درجة الحرارة و وقت التفاعل على المردود %.

V.4.5.2. القيم المثلى المتوقعة للمتغيرات لنموذج التنبؤ:

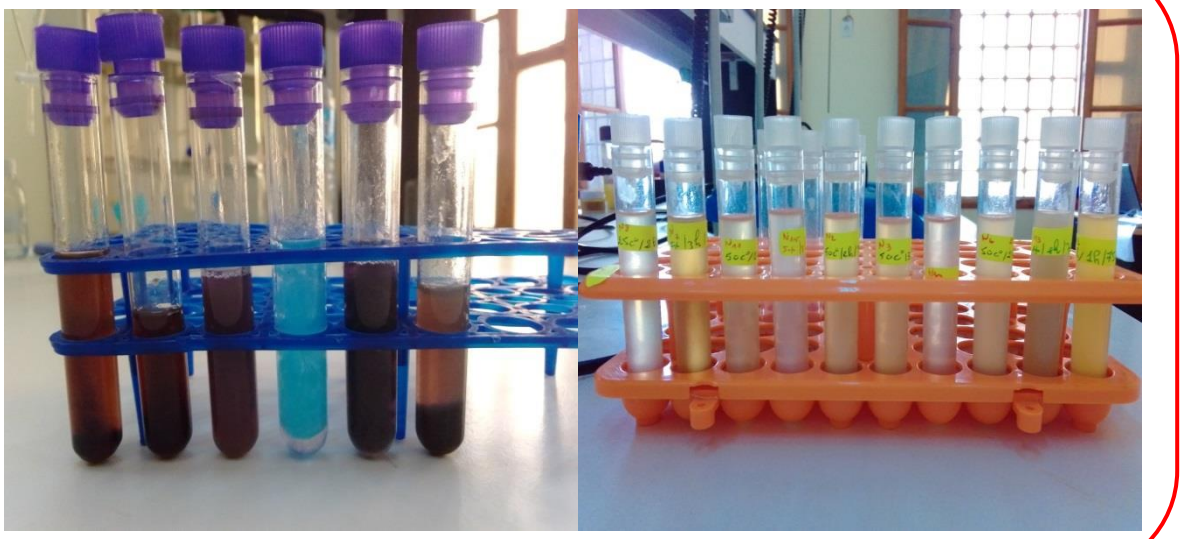
تم الحصول على القيم المتوقع من النموذج الرياضي لتنبؤ و ذلك من خلال إجراء حساب التصميم الإحصائي التكميلي تحت نفس الظروف التجريبية؛ يوضح **الشكل (V-10)** أن قيمة الإستحقاق تساوي 0.834 ، تتوافق نسبة المردود المتوقع التي تم الحصول عليها مع تركيز بيروكبريتيت الصوديوم (x_1) 1%، ودرجة الحرارة (x_2) 55°C ، ووقت التفاعل (x_3) 0.57 ساعة.



الشكل (V-10): الظروف المثلى المتوقعة بطريقة RSM .

3.IV. الكشف عن بروتين الكيراتين:

تم تحديد وجود بروتين الكيراتين عن طريق إختبار البيوريت ($CuNO_4$ و NaOH بتركيز مخفف)، حيث يتحول لون العينة إلى اللون الأرجواني ما يدل على وجود رابطة الببتيد كما هو موضح في **الشكل(IV-11)**، كذلك تم حصول على هذه النتائج من طرف (Tran, Quang Huy) و الآخرون[1].



الشكل(IV-11) : يوضح طريقة الكشف عن بروتين الكيراتين.

4.IV.مقارنة النتائج :

من خلال نتائج هذه الدراسة التي تم فيها متابعة المتغيرات الآتية: تركيز الثيوريا و بيروكبريتيت الصوديوم، ودرجة الحرارة، والوقت في تحسين قيمة المردود، تم الوصول على نسبة المئوية عالية للمردود بنسبة تقدر بـ 96% كقيمة تجريبية، وهي قيمة ممتازة مقارنةً بالدراسات السابقة (لا تتجاوز قيمتها 50%).

بالإضافة إلى ذلك ، فإن مجال تركيز الثيوريا المعمول به في هذا العمل البحثي مجالا واسعا مقارنة بدراسات أخرى (من 1% إلى 9%) مع درجة الحرارة (25-75 C°) والوقت (0.5-3 h)، وذلك من أجل تحسين نسبة المردود(%).

في الختام، توفر نتائج هذا العمل بديلاً هامًا لإنتاج الكيراتين بمردود عالي، ويرجع ذلك إلى الظروف التجريبية، مما يدل على فائدة البحث الحالي مقارنة بالدراسات الأخرى، وبالتالي فإن إستخدام تصميم سطح الإستجابة (RSM) يكون ملائما للحصول على نتائج جيدة، هذا ما تبينه مقارنة نتائج دراسات سابقة مع دراستنا كما هو مبين في **الجدول (V-9)**.

الجدول (V-9): مقارنة النتائج.

مصدر الكيراتين	الظروف التجريبية المثلى	درجة الحرارة(°C)	الوقت(h)	المردود (%)	المرجع
الصوف	اليوريا 8 M، بيروكبريتيت الصوديوم 2.5M، وNaOH لتعديل pH إلى6.5	100	5	22	[2]
	اليوريا 8 M، بيروكبريتيت الصوديوم 2.5M، وNaOH لتعديل pH إلى6.5 SDS (g)/wool (g)=0.6	65	2	38	[3]
	اليوريا 8 M ; بيروكبريتيت الصوديوم 2.5M; وNaOH لتعديل pH إلى6.5 SDS (g)/wool (g)=0.6	60	5	41	[4]
	اليوريا 8 M، بيروكبريتيت الصوديوم 0.5M; وNaOH لتعديل pH إلى7	65	2.5	32	[5]
	اليوريا 8 M ; بيروكبريتيت الصوديوم10g	60	10	41	[6]
	اليوريا 8 M، بيروكبريتيت الصوديوم0.5M ، و NaOH لتعديل pH إلى6.5	65	2	38	[7]
	المرحلة الأولى: الثيوريا8.04 % ، بيروكبريتيت الصوديوم0.5% ، و NaOH لتعديل pH إلى 11 **المرحلة الثانية:** الثيوريا 8 %، بيروكبريتيت الصوديوم 1 %، و NaOH لتعديل pH إلى 11	**المرحلة الأولى:** 58.03 **المرحلة الثانية:** 55	**المرحلة الأولى:** 2 **المرحلة الثانية:** 0.57	96.7	العمل الحالي

المراجع:

[1] Q. H. Tran and A.-T. Le, "Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives", J Advances in Natural Sciences: Nanoscience Nanotechnology, vol. 4, no. 3, p. 033001, 2013.

[2] M. Tischkowitz et al., "Analysis of PALB2/FANCN-associated breast cancer families", Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 104, no. 16, pp. 6788-6793, 2007.

[3] A. Aluigi, F. Rombaldoni, C. Tonetti, and L. J. Jannoke, "Study of Methylene Blue adsorption on keratin nanofibrous membranes", Journal of hazardous materials, vol. 268, pp. 156-165, 2014.

[4] A. Shavandi, T. H. Silva, A. A. Bekhit, and A. E.-D. A. J. B. s. Bekhit, "Keratin: dissolution, extraction and biomedical application", Biomaterials science, vol. 5, no. 9, pp. 1699-1735, 2017.

[5] H. Rajabinejad, M. Zoccola, A. Patrucco, A. Montarsolo, G. Rovero, and C. J. T. R. J. Tonin, "Physicochemical properties of keratin extracted from wool by various methods", Textile Research Journal, vol. 88, no. 21, pp. 2415-2424, 2018.

[6] A. Shavandi, A. E.-D. A. Bekhit, A. Carne, A. J. Bekhit, "Evaluation of keratin extraction from wool by chemical methods for bio-polymer application", Journal of bioactive and compatible polymers, vol. 32, no. 2, pp. 163-177, 2017.

[7] C. Tonin et al., "Thermal and structural characterization of poly (ethylene-oxide)/keratin blend films", Journal of thermal analysis and calorimetry, vol. 89, no. 2, pp. 601-608, 2007.

الخاتمة

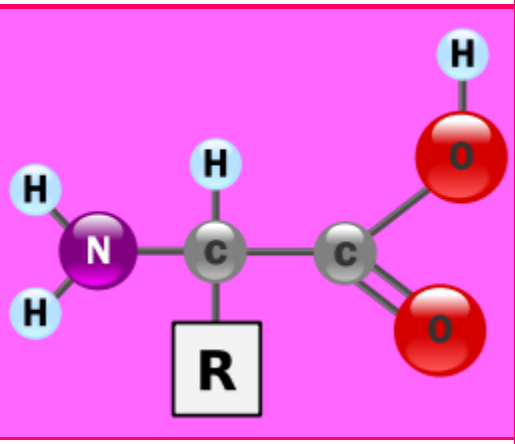
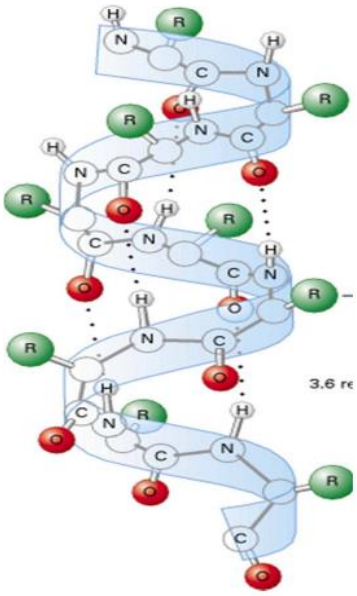
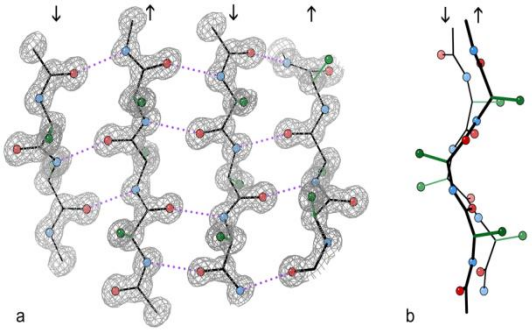
يعتبر الكيراتين الموجود في صوف مصدرًا طبيعيًا للبروتين، حيث يعتبر الصوف نفايات بدون أهمية لكن لهذه نفايات قيمة تجارية وصناعية كبيرة، حيث يتم معالجتها بطرق سليمة من أجل الإستفادة منها في عدة مجالات.

خلال هذا العمل درسنا تأثير المتغيرات المتمثلة في تركيز الثيوريا و بيروكبريتيت الصوديوم ودرجة الحرارة والوقت على مردود استخلاص الكيراتين من صوف الغنم، حيث تحصلنا على الظروف المثلى لمردود بواسطه منهجية سطح الإستجابة RSM من خلال إعتماد خطة Box-Behnken ،على أساس النموذج الرياضي للتنبؤ و عليه ووفقا لتحليلات ANOVA الإحصائية ، فإن النموذج الذي تم الحصول عليه جيد جدا($P < 0.05$) ، وأيضا هناك ارتباط مرضٍ بين القيم المقاسة والقيم المعدلة $R^2 = 0.98$ و $R^2adj = 0.96$ ، حيث تم تنفيذ النمذجة والإستفادة المثلى لمردود بواسطة منهجية سطح الإستجابة RSM باستخدام برنامج Design Expert 12.

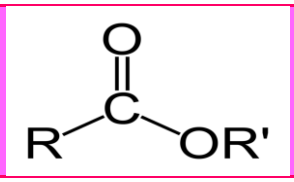
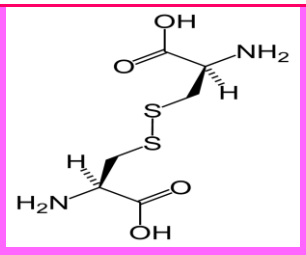
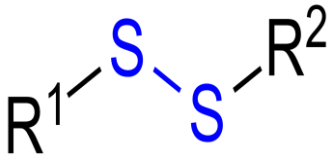
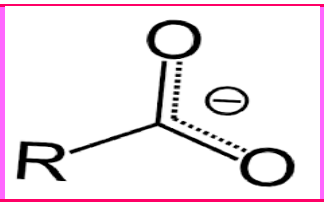
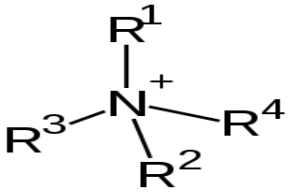
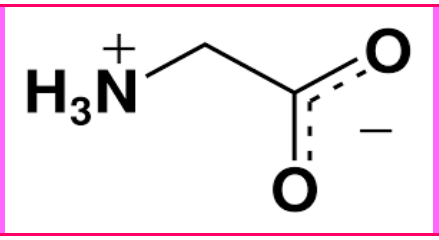
إن البحث عن الظروف المثلى ، الذي تم عن طريق تحليل سطح الإستجابة RSM ، جعل من الممكن تحديد القيمة المثلى للمردود حيث تحصلنا في عملنا التجريبي على قيمة مثالية لمردود 96 % هذا يتوافق مع القيم التالية للمتغيرات: تركيز الثيوريا 8.34% ،و بيروكبريتيت الصوديوم0.5% ، و درجة الحرارة عند 66.48 درجة مئوية ، والوقت عند 2.24 ساعة.

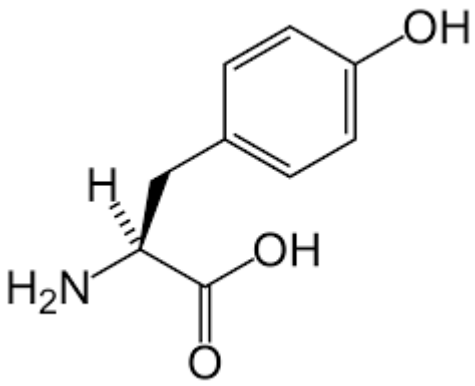
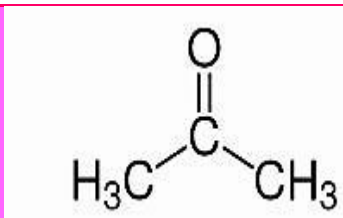
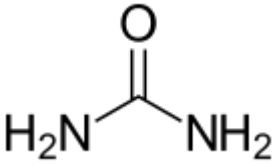
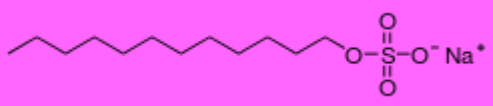
علاوة على ذلك، لثيوريا تأثير كبير على مردود إستخلاص الكيراتين على عكس بيروكبريتيت الصوديوم، وبالنسبة لدرجة الحرارة تؤثر بشكل كبير على مردود عند إستخدام كلا من ثيوريا و بيروكبريتيت الصوديوم، كما يكون للوقت تأثير على نسبة المردود(%)عند إستعمال الثيوريا.

الملاحـــق

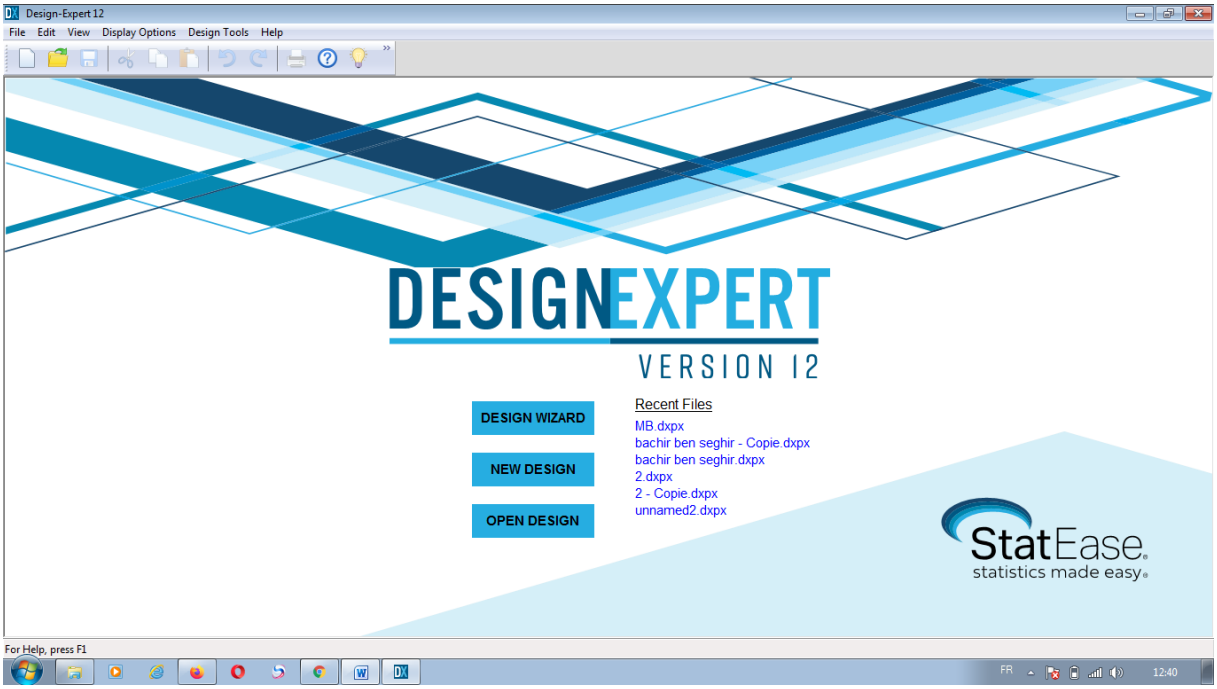
الإسم بالعربية	الصيغة الكيميائية	وصفه	التسمية اللاتينية
البولي ببتيد		سلسلة أحماض أمينية	Polypeptide
كبريتيد الهيدروجين	H_2S	غاز عديم اللون	Sulfure d'hydrogène
الكبريتيد	S^{-2}	أيون	Sulfure
لولب ألفا		بروتين ثانوي البنية	α-hélice
صحيفة بيتا		بروتين ثانوي البنية	Feuillets β

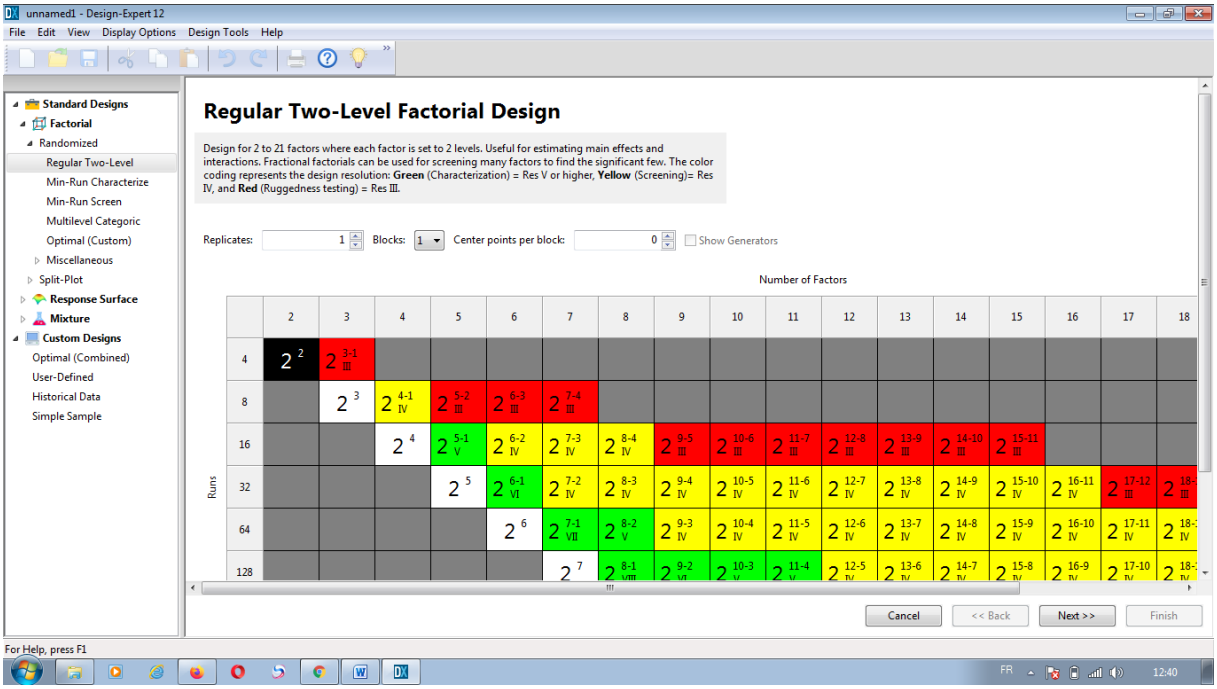
الملحق الأول

Ester d'acide gras	مزيج من الأحماض الدهنية مع الكحول		الأسترات الدهنية
Potassium	الفلزّات القلوية	K	بوتاسيوم
Sulfate	أملاح حمض الكبريتيك	SO_4^{-2}	كبريتات
Phosphate	يعد الفوسفات من المعادن	PO_4^{-3}	الفوسفات
Cystine	مركب ثنائي الكبريتيد يتكون جراء أكسدة جزيئين من الحمض الأميني	 $C_6H_{12}N_2O_4S_2$	سيستين
Disulfure de cystine	ترتبط ذرات الكبريت لجزيئين *سيستين*		ثنائي الكبريتيد
Anion carboxyle	هي قاعدة مترافقة تشكل أنيون الكربوكسيل		أنيون الكربوكسيل
Cations d'ammonium	هى عبارة عن أيونات موجبة متعددة الذرات الشحنة		كاتيونات الأمونيوم
Glycine	حمض أميني		الجليسين

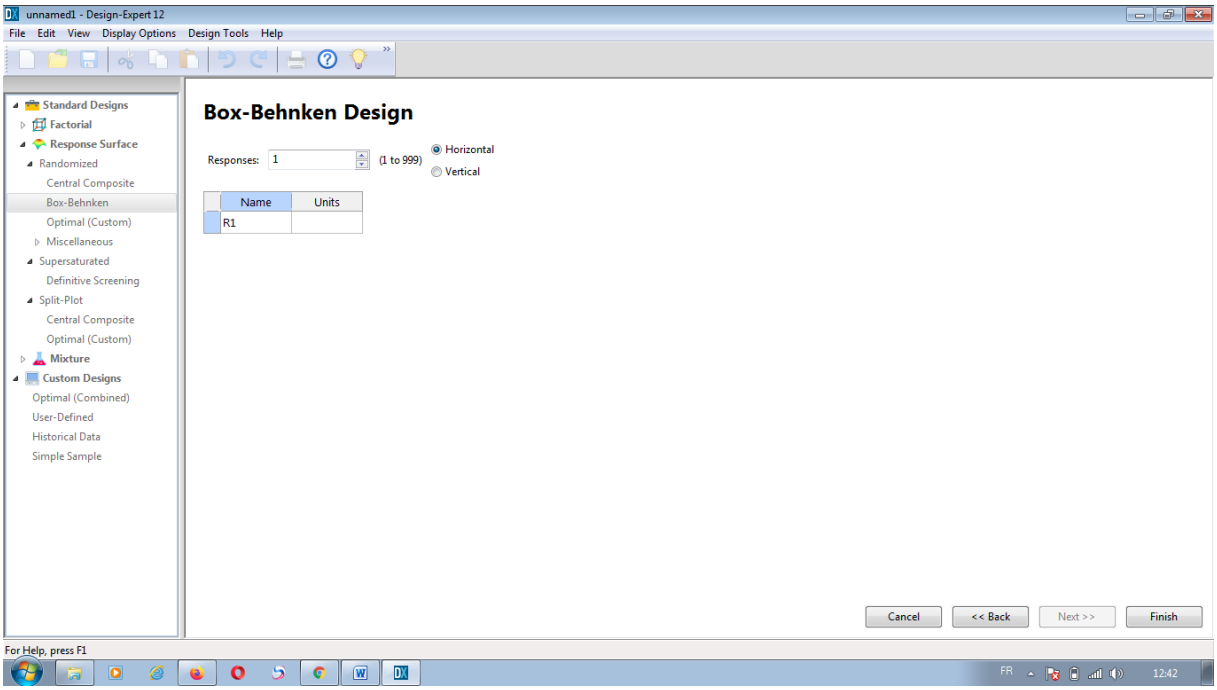
(S)-Tyrosine	نوع من أحماض أمينية		التيروزين
Salicylic acid	حمض كربوكسيلي أروماتي		حمض الساليسيليك
Éthanol	كحول	C_2H_5OH	إيثانول
Acétone	كاتيون		الأسيتون
Urea	مركب نيتروجينيّ		اليوريا
Sodium dodecyl sulfate	الملح الصوديومي حمض الكبريت		دوديسيل كبريتات الصوديوم

الخطوة الاولى: فتح البرنامج.

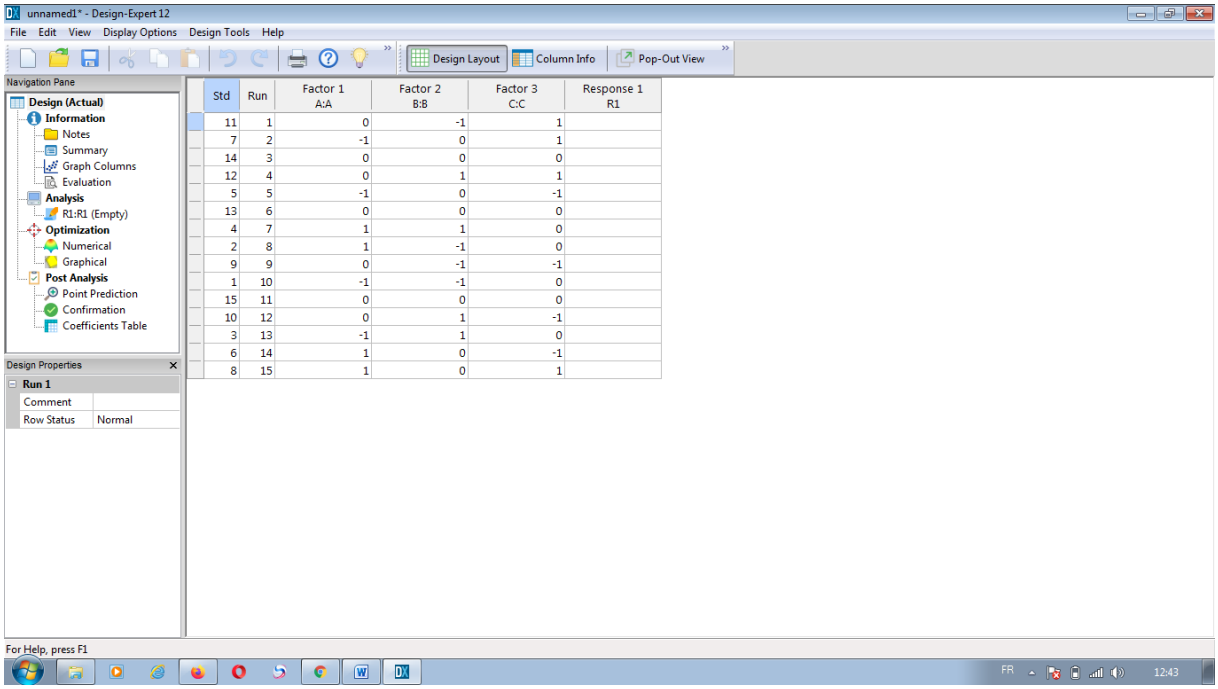




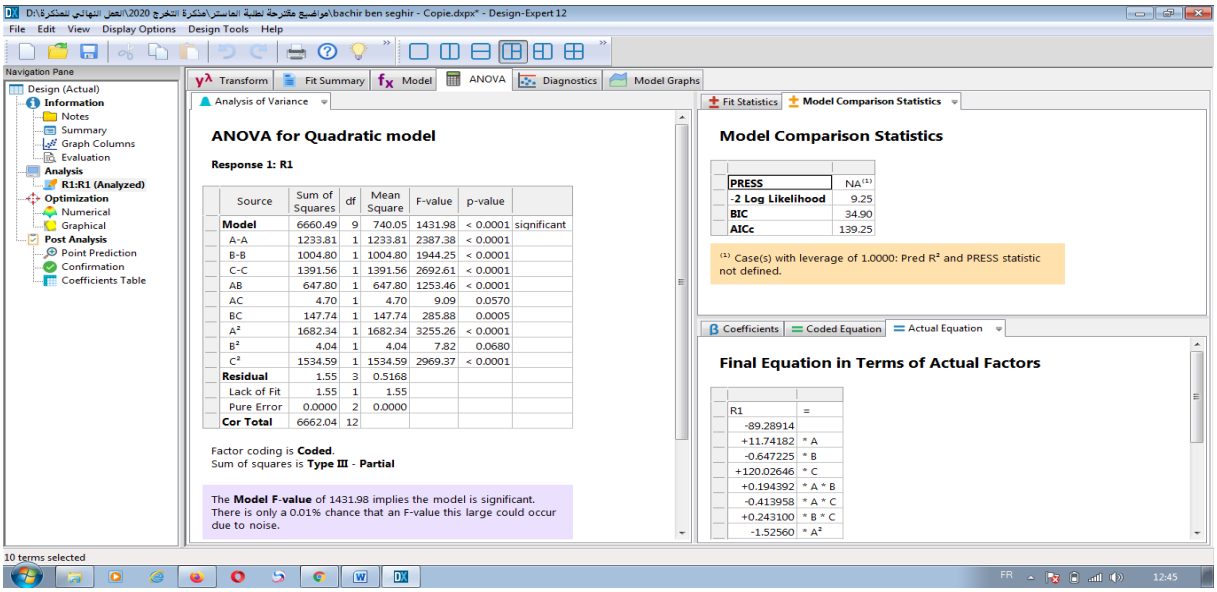
الخطوة الثانية: إختيار طريقة النمذجة و خطة التجريبية الإحصائية.

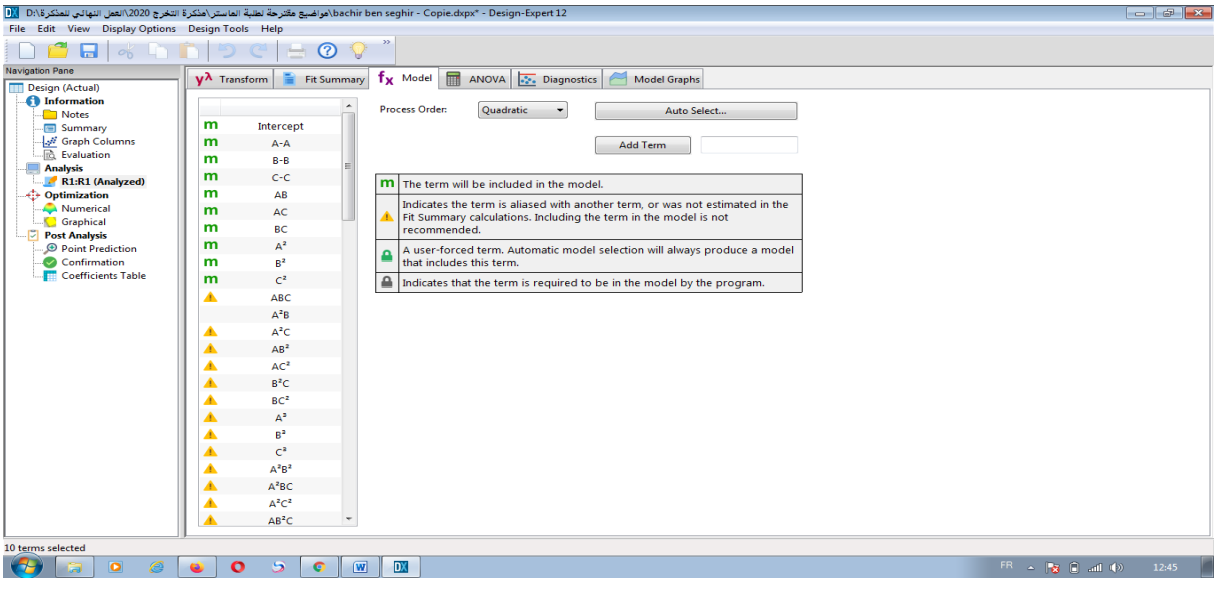


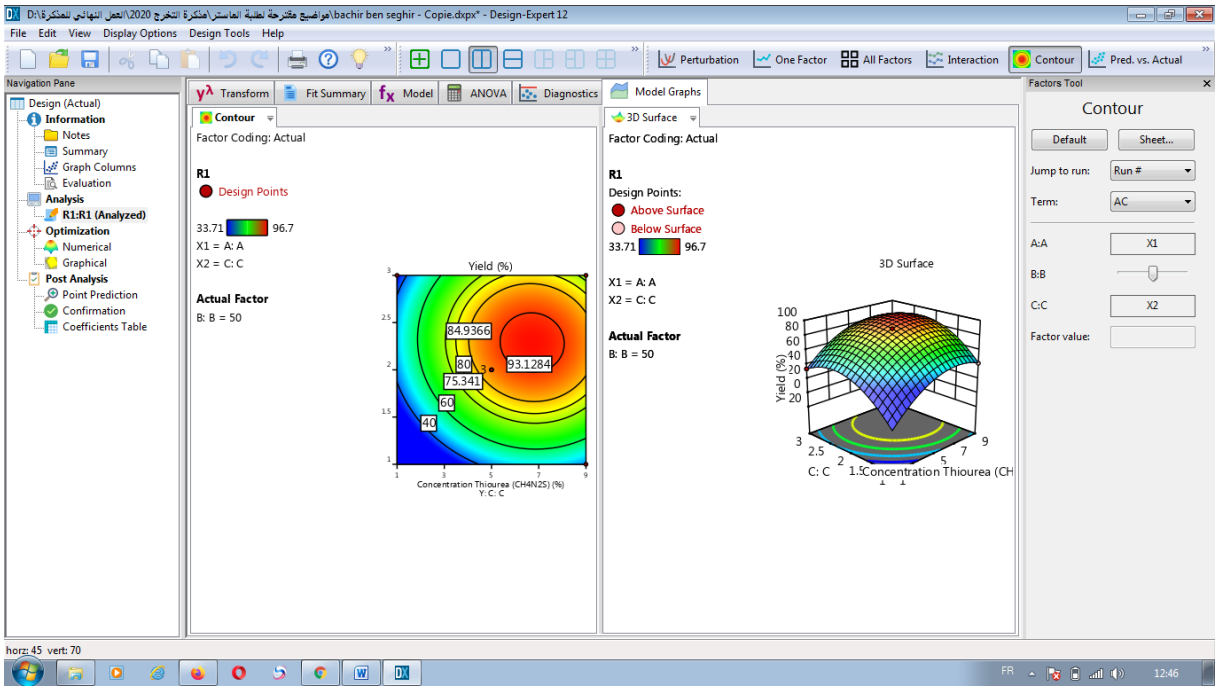
الخطوة الثالثة: إدخال النتائج العملية.



الخطوة الرابعة: تحليل النتائج







قيم ترددات الإهتزاز للوظائف الكيميائية بواسطة الأشعة تحت الحمراء في الجدول التالي

:

Groupement	Liaison	Nombre d'onde	Vibration	Intensité
Alcools primaires	O-H	3640	élongation	intense et large
Alcools secondaires	O-H	3630	élongation	intense et large
Alcools tertiaires	O-H	3620	élongation	intense et large
Acides	O-H	3550-3500	élongation	intense et très large
Amines primaires	N-H	3500-3410	élongation asymétrique	faible
Amides primaires	N-H	3500-3400	élongation asymétrique	faible
Amines secondaires	N-H	3350-3310	élongation	faible
Amides secondaires	N-H	3400-3300	élongation	faible
≡C-H (alcynes)	C-H	3340-330	élongation	moyenne et fine
Aromatiques	C-H	3080-3030	élongation	moyenne
=CH2 (alcènes)	C-H	3080- 2975	élongation asymétrique	moyenne
-CH3 (alcanes)	C-H	2960- 2870	élongation asymétrique	forte
-CH2-	C-H	2925- 2850	élongation asymétrique	forte
-C-H	C-H	2890	élongation	faible
Aldéhydes	C-H	2830-2720 ; 2650	élongation asymétrique	Faible ; moyenne
Nitrile	-C≡ N	2260-2210	élongation	moyenne à forte
Aromatiques	C-H	2000-1660 plusieurs bandes	harmonique des déformations C-H	faible
Aldéhydes aliphatiques	C=O	1740-1720	élongation	forte
Aldéhydes aromatiques	C=O	1715-1695	élongation	forte
Cétones linéaires	C=O	1725-1705	élongation	forte
Acides	C=O	1800-1740	élongation	forte
Esters aliphatiques	C=O	1750-1730	élongation	forte
Cétones aromatiques	C=O	1700-1670	élongation	forte
Amides secondaires	C=O	1700-1630	élongation	forte
Amides primaires	C=O	1690-1620	élongation	forte
Alcane	C-C	1000-1250	élongation	forte
Alcène	C=C	1645	élongation	moyenne
Aromatiques	C=C	1600 et1500	élongation	variable
Alcyne	C≡C	2150-2100	élongation	faible

Amines primaires	N-H	1640-1560	déformation cisaillement	forte à moyenne
Amines secondaires	N-H	1580-1490	déformation	très faible
Amides primaires	N-H	1650-1590	déformation	moyenne
Amides secondaires	N-H	1570-1510	déformation	moyenne
-CH2-	C-H	1470	déformation cisaillement	moyenne
-CH3 (alcanes)	C-H	1460 1380	déformation asymétrique déformation symétrique	moyenne
-CH	C-H	1340	déformation	faible
Alcools	O-H	1410-1330	déformation dans le plan	
Acides	O-H	1380-1280	déformation dans le plan	moyenne
Amines	C-N	1230-1030	élongation	moyenne
Amines aromatiques	C-N	1360-1180	élongation	moyenne à forte
Esters	C-O	1300-1050	élongation 2 bandes	
Acides	C-O	1190-1075	élongation	forte
Alcools tertiaires	C-O	1150	élongation	variable
Ether	C-O	1150-1070	élongation	variable
Alcools secondaires	C-O	1100	élongation	variable
Alcools primaires	C-O	1050	élongation	variable
Aromatiques	C-H	900-700	déformation dans le plan bandes caractéristiques du type de substitution	variable
Amine primaire	N-H	900-650	déformation torsion	moyenne et large
(CH2-) n	C-H	725-720	déformation balancement n>4	faible

Groupement	Vibration	Nombre d'onde	Intensité
C_{sp}^{2}-H (aromatique)	Valence	3030-3080	moyenne
C_{sp}^{2}-H (aromatique) monosubstitué	Déformation hors du plan	690 – 770 730 - 770	forte forte
C_{sp}^{2}-H (aromatique) o-disubstitué	Déformation hors du plan	735 - 770	forte
C_{sp}^{2}-H (aromatique) m-disubstitué	Déformation hors du plan	680 – 725 750- 810	moyenne forte
C_{sp}^{2}-H (aromatique) p-disubstitué	Déformation hors du plan	800 - 860	forte
C_{sp}^{2}-H (aromatique) 1, 2,3-trisubstitué	Déformation hors du plan	685 – 720 770- 800	moyenne forte
C_{sp}^{2}-H (aromatique) 1, 2,4 trisubstitué	Déformation hors du plan	800 – 860 860 - 900	forte moyenne
C_{sp}^{2}-H (aromatique) 1, 3,5 trisubstitué	Déformation hors du plan	675 – 730 810 - 865	forte forte

النشر العلمي

ISSN 0974-4169(Print)
0974-4150(Online)

www.ajrconline.org

RESEARCH ARTICLE

Preparation and Optimization of Keratin from Sheep Wool using Response Surface Methodology

Bachir Ben Seghir[1], Ilham Ben Amor[2], Ahlam Beki [2], Imane Souici[2], Hadia Hemmami[3], Zeghoud Soumeia[3], Salah Eddine Laouini[2], Abdelkrim Rebiai[3]

[1]Laboratory of Industrials Analysis and Materials Engineering, University 8 May 1945 Guelma, BP 401 Guelma 24000, Algeria.

[2]Department of Process Engineering, Faculty of Technology, University Hamma Lakhdar El Oued, BP 789, El-Oued39000, Algeria.

[3]Laboratory Valorisation and Technology of Saharan Resources (VTRS). University of El Oued, BP 789 El-Oued (39000) Algeria.

*Corresponding Author E-mail: **bbachir39@gmail.com**

ABSTRACT:

The wool consists of around 90 % keratin, an essential ingredient in cosmetics, shampoos, and hair care creams. The goal of this study was to determine the optimum conditions for keratin from wool extraction. Keratin isolation using different agents for sulfitolysis has been studied using statistical experimental method. In the extraction procedure, concentration Thiourea (CH_4N_2S), temperature and time reaction were analysed. The optimization yield (%) of keratin was achieved at obtained corresponds to the concentration Thiourea of x_1= 8.6 %, the tempera-ture of x_2= 65.50 °C and the reaction time of x_3= 2 h, using response surface methodology (RSM). In addition, because of its good the model of experiment was significant with $p<0.05$ and adj R^2 = 0.9991 with a good yield of keratin.

KEYWORDS: Wool, Keratin, Sulfitolysis, Optimization, Response Surface.

INTRODUCTION:

Today, the disposal of keratinous waste is a problem; indeed, more than 40 million tons per annum are produced by the ever-increasing food industry (meat, slaughter house and dairy products), whose production and demand are driven by the United States, Brazil and China. Disposal of keratin biomasses is an concern to be addressed since its fuel burning is inefficient (keratin is self-extinguishing) and polluting (because of the high sulphur content) [1, 2].

Wool is accessible as leftover biomass from the sheep wool industry, in significant quantities. Those are often known as "waste" which is particularly hard to dispose of or recycling. Scalding and landfilling are the most popular methods for removing this residual biomass and create serious environmental problems[3].

Keratin is one of most plentiful and underutilized protein sources, as a major component of fur, hair, nails, hooves, feathers, and horns[4]. As well keratin waste is high in nitrogen- and sulphur-containing proteins. This primarily contains 90% percent keratin and about 15–18% percent nitrogen and 2–5% percent sulfur[5].

The two more abundant types of keratin are called β-sheet keratins; α-helical keratins have a higher content of cysteine and a higher quantity of disulphurised and thus

Received on 22.04.2020 Modified on 02.05.2020
Accepted on 11.05.2020 ©AJRC All right reserved
Asian J. Research Chem. 2020; 13(3):157-162.
DOI: 10.5958/0974-4150.2020.00031.0

more robust bridges. They contain in the most through amino acids[6]. Also keratin production methods such as reduction, oxidation reactions, enzymatic hydrolysis, and ionic liquids are achievable[7]. Where cysteine plays a major role in evaluating the physicochemical characteristics of wool keratin and in contrast with most other proteins[8]. These are insoluble macromolecules which contain a tight packing of large polypeptide supercoiled chains. A higher degree of cross-linked cystine in keratin between the peptide chains imparts high stability and degradation resistance. A large range of techniques were employed, including reduction or oxidation reactions, to dissolve the hard keratin[9].

Nevertheless, studies have shown that keratin from wool can be obtained by many solvents, depending on the conditions of the experiment, in which it is placed in an aqueous solution of 2% w/v peracetic acid for 24 h at ambient temperature (mass wool to liquid ratio 1: 50). At the other hand, mixtures of temperature (40, 60 and 80 °C), pH (13, 12 and 11), time (1, 2 and 3 h) and concentrations of NaOH (20, 30 and 40) g/l respectively [10, 11].

Sodium sulfide was also used as a cheaper chemical substitute of mercaptoethanol, and was commonly used through sulfitolysis to remove keratin from wool[4].

In this study, keratin was extracted from the sheep wool and optimization of extraction conditions in order to increase its High-yield and that by using chemical method. The extracted and High-yield keratin was characterized for its good structural properties. The objective of this research work was to screen the best reducing agent and optimize the extraction process using method response surface RSM. And this influence of the following variables: concentration Thiourea and Sodium Metabisulfite, extraction time, temperature of reaction.

MATERIAL AND METHODS:

Materials:

Wool of Sheep variety (Fig. 1), obtained from sheep's of El Oued (Algeria) are used in this study. Chemicals used in the procedure i.e. Sodium Hydroxide (NaOH), Thiourea (CH_4N_2S), Ethanol (C_2H_6O), Acetone (C_3H_6O), Sodium Metabisulfite ($Na_2S_2O_5$), Copper nitrate ($Cu(NO_3)$) are purchased from Chemopharma BIOCHEM (France); Hydrogen peroxide (H_2O_2) of 30 % concentration is obtained from Bettaher BouaadjmiSIG (Algeria).

Fig. 1. Wool of Sheep.

Methods:

Pre-treatment of the wool:

Raw wool sheep have been washed to eliminate all the impurities from the grass and dirt. The wool was washed with detergent water afterwards and dried under sunlight. And after that, the dried wool was cut into smaller pieces. Then, for 2 hours at ambient temperature, the wool is washed with acetone / ethanol at a concentration of 5 per cent at 50/50 (v/v) to remove the fat. In the end, wool is washed with oxidized water in a concentration of 10% to get rid of the residues of acetone and ethanol.

Extraction of keratin from wool:

Upon drying at 50 °C, 2 g of wool fibers were treated with 50 mL of aqueous solution containing urea (8%), sodium metabisulfite (0.5%), modified to pH 11 with NaOH (1%) under shaking 600 rpm at 60C for 2.5 h, as shown in Fig.2. At 10,000 rpm, the precipitates were separated by centrifugation, and the sediment washed three times with ddH2O.

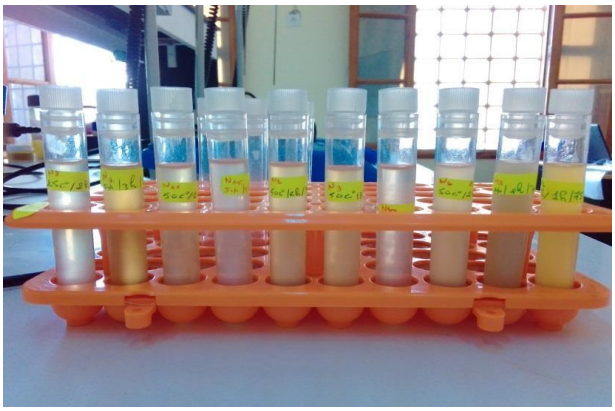


Fig. 2. Different extracted of keratin.

The yield of each extraction method was calculated by the ratio between the weight sample extracted (W') and the initial weight of the wool (W) is using the following equation **(**1**)**[12]:

$$\text{Yield (\%)} = \frac{W1}{W} \times 100\ \% \quad (1)$$

Testing of Keratin Protein:

The existence of protein was first detected through a biuretal test ($CuNO_3$ and NaOH at a reduced concentration) where the sample turns violet in the existence of a peptide bond (13), as shown in Fig. 3.

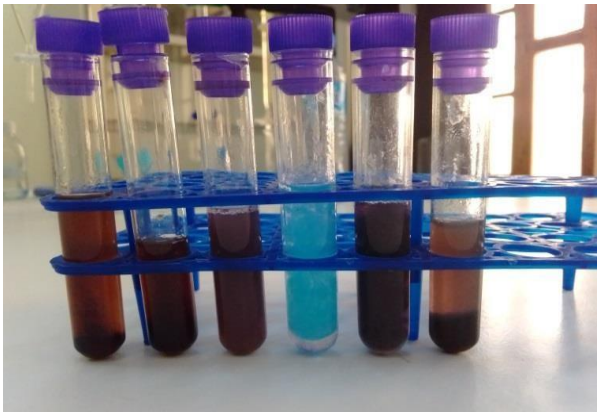


Fig. 3. Presence of Keratin Protein

Response surface optimization of the extraction keratin:

RSM consists of a collection of mathematical and statistical techniques focused on fitting the experimental results obtained in relation with the experimental design with statistical models. To accomplish this purpose, linear or square quadratic functions are used to characterize the process being tested, thereby exploring (modelling and moving) the experimental parameters until they are optimised [14].

The chosen RSM approach uses a Box – Behnken Model (BBD) and the second-degree mathematical model used for two-way interactions. A linear model is the simplest model that can be used in RSM. It is important that the answers obtained are well matched to the following equation. (2). The RMS treatment is conducted with the statistics program Software Expert 12 [15-17].

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_4 x_4 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{14} x_{14} + \beta_{24} x_{24} + \beta_{34} x_{34} + \beta_{11} x_1^2 + \beta_{22} x_2^2 + \beta_{33} x_3^2 + \beta_{44} x_4^2 \ldots + \varepsilon \quad (2)$$

Y is the predicted response; β_0 is a model constant; β_1, β_2, β_3 and β_4 are the linear coefficients; β_{12}, β_{13}, β_{14}, β_{23}, β_{24} and β_{34} are the interaction coefficients; β_{11}, β_{22}, β_{33} and β_{44} are the quadratic coefficient; x_1, x_2, x_3 and x_4 are the independent variables; x_1x_2, x_1x_3, x_2x_3 are factors' interaction terms, x_1^2, x_2^2, x_3^2 and x_4^2 are factors quadratic terms and ε is the residual associated to the experiments.

RESULTS AND DISCUSSION:

Extraction and protein yield:

The optimal conditions for yield the optimization process for the extraction of keratin from wool using RSM. The parameters employed at chemical and physical methods in this article were as follows in Table 1.

Table 1: Experiment design levels for various factors.

Parameters	Codes	Level		
		-1.0	0.0	1.0
Concentration Thiourea (CH_4N_2S) (%)	x_1	1	5	9
Temperature (°C)	x_2	25	50	75
Time (h)	x_3	1	2	3

Experimental design using RSM method results in the following quadratic model:

$$Y = -89.28914 + 11.74\,x_1 - 0.647\,x_2 + 120.02\,x_3 + 0.194\,x_1x_2 - 0.413\,x_1x_3 + 0.243\,x_2x_3 - 1.525\,x_1^2 - 0.002\,x_2^2 - 28.271\,x_3^2 \quad (3)$$

Where: Y the predicted response of yield (%), x_1 is the concentration of Thiourea (CH_4N_2S), x_2 reaction temperature and x_3 reaction time. These factors were obtained by *BBD* analysis (Table 1).

Results from the RSM approach are shown in Table 2 and show good Yield (%) percent reproducibility. This helps us to conduct an analysis of variance using (ANOVA), as shown in Table 3.

Table 2: Yield (%) predicted by RSM method.

Run	x_1	x_2	x_3	Yield (%)	
				Experimental*	Predicted
1	5	75	1	51	51.00
2	5	50	2	88.85	88.85
3	1	50	3	33.85	33.85
4	9	50	3	73.05	73.05
5	5	50	2	88.85	88.85
6	5	75	3	96.7	96.70
7	1	25	2	46.45	46.45
8	9	50	1	41.8	41.80
9	5	25	1	33.71	33.71
10	9	25	2	51.1	51.10
11	1	75	2	36	36.00
12	5	50	2	88.85	88.85
13	5	25	3	55.1	55.10

Table 3: Yield (%) using ANOVA variance analysis.

Source	SS	DF	MS	F - Value	P-Value
Model	6660.49	9	740.05	1431.98	< 0.0001*
x_1	1233.81	1	1233.81	2387.38	< 0.0001*
x_2	1004.80	1	1004.80	1944.25	< 0.0001*
x_3	1391.56	1	1391.56	2692.61	< 0.0001*
x_1x_2	647.80	1	647.80	1253.46	< 0.0001*
x_1x_3	4.70	1	4.70	9.09	0.0570[b]
x_2x_3	147.74	1	147.74	285.88	0.0005*
x_1^2	1682.34	1	1682.34	3255.26	< 0.0001*
x_2^2	4.04	1	4.04	7.82	0.0680[b]
x_3^2	1534.59	1	1534.59	2969.37	< 0.0001*
Residual	1.55	3	0.5168	/	/
Lack of Fit	1.55	1	1.55	/	/
Pure Error	0.0000	2	0.0000	/	
Total	6662.04	12		/	/
R^2	0.9998	/			
R^2 Adjusted	0.9991	/			

SS: Sum of Square; DF: Degree of Freedom; MS: Mean Square; Significant; [b]: Not Significant

The value of the coefficient of determination R^2 = 0.9998, therefore close to the experimental so there is a perfect correspondence between the predicted and real value, in as show Table 2. In addition the value of adjusted R^2 = 0.9991, close to 1, also indicating that the model is very well adjusted. The model is significant because the values of *F-value* of the model is equal to 1431.98 as well as that of the probability (*P-value*) which is less than 0.05.

Moreover, all of the linear effects have values of P-Value <0.05 which indicates that there is a significant linear effect for the main parameters (Table 3): x_1, x_2 and x_3 for P-Value <0.05.

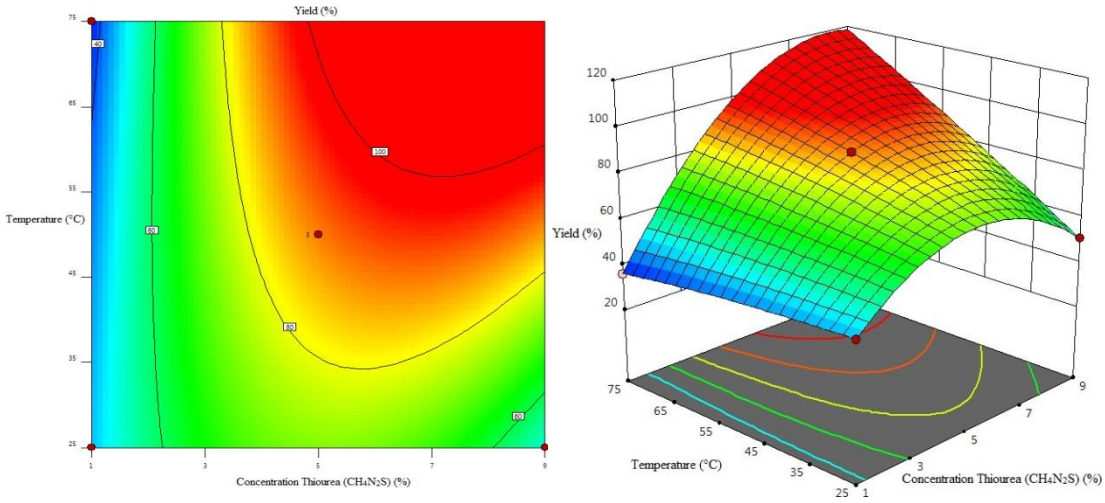
The values of P-Value obtained for the interactions of types x_1x_2, and x_2x_3 are <0.01, for the cases of interaction x_1x_3 the value of P-Value = 0.0570 and the square terms x_1^2 and x_3^2 are also significant. However x_1^2 less influential is a value of P-Value = 0.0680.

The results obtained under various conditions were analyzed statistically using an analysis of the response surface (3D), then represented in 2D by fixing each of the three parameters in turn (Fig.4).

The contours of Fig. 4 show the effect of different parameters and their interactions. The interactions between the concentration Thiourea (x1) and the temperature (x_2) shown in Fig.4-(a, a') reveal a very significant influence of the temperature on the efficiency of the Yield (%). At the lowest concentration of Thiourea (x_1) between 1% and 4%; the percentage of Yield (%) decrease from the temperature of about 50 °C. However, is perceived to have little effect on Yield (%) for low concentrations of Thiourea (x_1), an augment in the concentration of Thiourea (x_1)> 5% indicates an increase in Yield (%).

On the other hand, Fig.4-(b, b')shows the interaction between the NaOH concentration (x_3) and time (x_3), the effects are less significant on the extracted keratin reaction after a time (x_3)> 3 h with concentrations greater than 5%, so that the concentration of Thiourea is less than (x_1) less than 8.5%.

Furthermore, an effect is observed for the reaction time for keratin extraction (x_3) and the temperature (x_2). At higher temperature (x_2> 55 ° C) and higher time of (x_3 >2) presents a significant increase effect on Yield (%), unlike lower values where a weaker effect is observed (Fig.4-(c, c')).



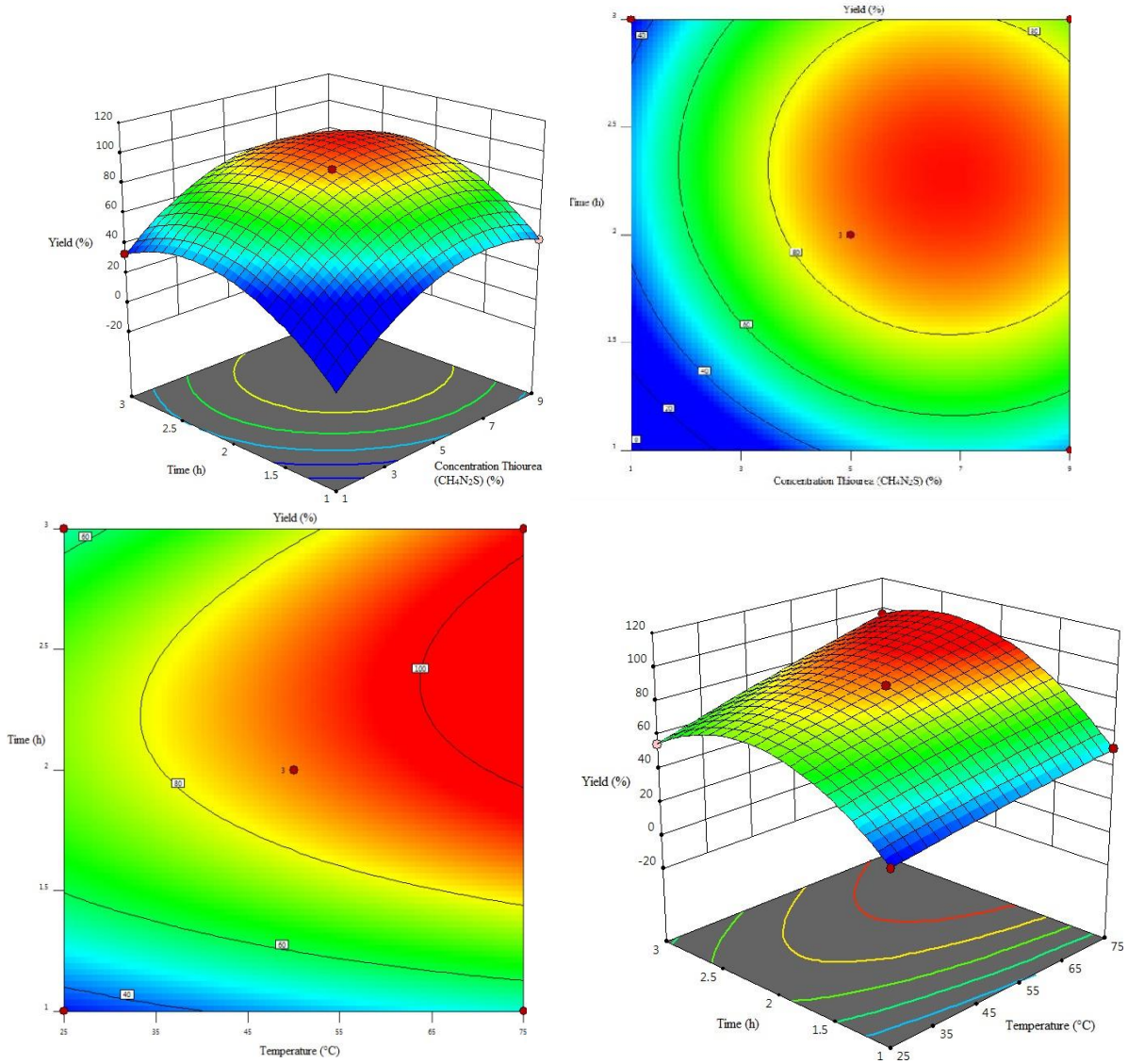


Fig. 4: a-c Variable effects on Yield (%) contour plots

Model validation:

To optimize and validate the predicted mathematical model, a complementary statistical design calculation was performed under the same experimental conditions; Fig. 5 shows that the higher desirability value is equal to 0.99 obtained from the results of the mathematical model.

Using these conditions, the maximum Yield (%) (Yield (%)= 98 %, experimental) obtained corresponds to the concentration Thiourea (x_1) of ~ 8.6 %, the temperature (x_2) of ~ 65.50 °C and the reaction time (x_3) of ~2 h.

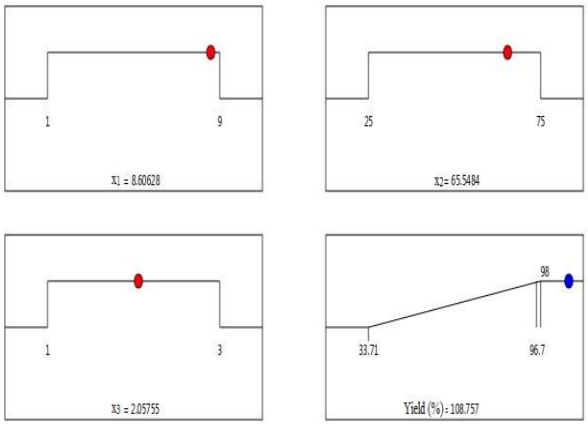


Fig. 5: Optimum conditions predicted by RSM method.

CONCLUSION:

This study researched the contents of is based essentially on the extraction of high purity keratin from sheep type wool, we investigated the influence of important factors on the extraction namely the Thiourea concentration, temperature and time and this by applying a response surface methodology (RSM) was used by applying a Box-Behnken plan based on the model quadratic. Optimizing the effects and interactions of this process has allowed us to increase the extraction Yield. The results obtained give an optimal Yield (%) equal to 98%.

ACKNOWLEDGMENT:

The authors wish to thank Mr. Ali Tliba from Laboratory Valorisation and Technology of Saharan Resources (VTRS), University of El Oued, staff for his assistance. We also thank the Laboratory for the Department of Process Engineering and petrochemical, Faculty of Technology, University Hamma Lakhdar El Oued, BP 789, El-Oued 39000, Algeria.

REFERENCES:

1. Zhang Y, Yang R, Zhao W. Improving digestibility of feather meal by steam flash explosion. J Journal of Agricultural Food Chemistry. 2014;62(13):2745-2751.
2. Dou Y, Huang X, Zhang B, He M, Yin G, Cui Y. Preparation and characterization of a dialdehyde starch crosslinked feather keratin film for food packaging application. J Rsc Advances. 2015;5(34):27168-27174.
3. Kamarudin NB, Sharma S, Gupta A, Kee CG, Chik SMSBT, Gupta R. Statistical investigation of extraction parameters of keratin from chicken feather using Design-Expert. J 3 Biotech. 2017;7(2):127.
4. Shavandi A, Silva TH, Bekhit AA, Bekhit AE-DA. Keratin: dissolution, extraction and biomedical application. J Biomaterials Science. 2017;5(9):1699-1735.
5. Kushwaha RK, Guarro J. Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi: Revista Iberoamericana de Micologia; 2000.
6. Kumar SL, Anandhavelu S, Sivaraman J, Swathy M. Modified extraction and characterization of keratin from Indian goat hoof: A biocompatible biomaterial for tissue regenerative applications. J Integrated Ferroelectrics 2017;184(1):41-49.
7. Sharma S, Gupta A, Chik S, Gek K, Podde P, Thraisingam J, Subramaniam M. Extraction and characterization of keratin from chicken feather waste biomass: a study. In.Proceedings of the national conference for postgraduate research (NCON-PGR 2016), Universiti Malaysia Pahang (UMP), Pekan; 2016. p. 693-699.
8. Shavandi A, Carne A, Bekhit AA, Bekhit AE-DA. Conversion of waste wool to protein using a simple oxidation method.
9. Poole AJ, Lyons RE, Church JS. Dissolving feather keratin using sodium sulfide for bio-polymer applications. J Journal of Polymers the Environment. 2011;19(4):995-1004.
10. Rajabinejad H, Zoccola M, Patrucco A, Montarsolo A, Rovero G, Tonin C. Physicochemical properties of keratin extracted from wool by various methods. J Textile Research Journal. 2018;88(21):2415-2424.
11. Teklemedhin B. Cationization of Cotton Using Extracted Keratin from Ethiopian Sheep Wool Waste for Salt Free Dyeing with Reactive Dye. J Textile Sci Eng. 2018;8(365):2.
12. Shavandi A, Bekhit AE-DA, Carne A, Bekhit A. Evaluation of keratin extraction from wool by chemical methods for bio-polymer application. J Journal of Bioactive Compatible Polymers. 2017;32(2):163-177.
13. District HBT. Silver nanoparticles: synthesis, properties, toxicology, applications and perspectives. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology. 2013;4(3):033-001.
14. Bezerra MA, Santelli RE, Oliveira EP, Villar LS, Escaleira LA. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. J Talanta. 2008;76(5):965-977.
15. Seghir BB, Benhamza M. Preparation, optimization and characterization of chitosan polymer from shrimp shells. J Journal of Food Measurement Characterization. 2017;11(3):1137-1147.
16. Yeul VS, Rayalu SS. Unprecedented chitin and chitosan: A chemical overview. Journal of Polymers the Environment. 2013;21(2):606-614.
17. Benhabiles M, Salah R, Lounici H, Drouiche N, Goosen M, Mameri N. Antibacterial activity of chitin, chitosan and its oligomers prepared from shrimp shell waste. Food Hydrocolloids. 2012;29(1):48-56.

Algerian Journal of Chemical Engineering

Journal homepage: http://www.ajce.periodikos.com.br/

Review Article

Preparation methods keratin and nanoparticles keratin from wool: a review

Bachir Ben Seghir[a]*, Hadia Hemmami[b], Zeghoud Soumeia[b], Salah Eddine Laouini[b], Abdelkrim Rebiai[b], Ilham Ben Amor[c], Imane Souici[c], Ahlam Beki[c]

[a]*Laboratory of Industrials Analysis and Materials Engineering, University 8 May 1945 Guelma, BP 401 Guelma 24000, Algeria*
[b]*Laboratory Valorisation and Technology of Saharan Resources (VTRS). University of El Oued, BP 789 El-Oued 39000, Algeria*
[c]*Department of Process Engineering, Faculty of Technology, University Hamma Lakhdar El Oued, BP 789, El-Oued 39000, Algeria*

ARTICLE INFO

Article history:
Received 03 June 2020
Revised 02 July 2020
Accepted 05 July 2020

Keywords:
Keratin;
Protein;
Nanoparticle;
Synthesis;
Applications.

ABSTRACT

Keratins are a group of fibrous proteins, These proteins are abundantly present in nature and constitute the major part of the hair, wool, horns, nails, feathers, and the stratum corneum of the skin. Among others, an ecological and economic point of view, recovery of many organic substances discharged into the effluent of textile mills is of prime importance. This thesis review certain physical and chemical characteristics of the keratin derived utilizing five processes of chemical extraction: reduction, hydrolysis, sulfitolysis, oxidation, and production. Since the keratin is a group of fibrous protein and has many useful applications. For example: In pharmaceutical industries, plastic production, biosorption, and tissue engineering. Considering this advantage, this work mainly concentrates on the nanoparticle keratin synthesis through different methods.

© 2020 Faculty of Technology, University of Echahid Hamma Lakhdar. All rights reserved

1. Introduction

Environmental concern and growing demand for healthy and sustainable bio-based materials are prompting the search for better and "green" ways to utilize natural by-products available [1].

Keratin is one of the most plentiful and underexploited sources of protein, as the main component of fur, hair, nails, hooves, feathers, and horns [2]. On her head, keratin is present in various sources in nature, over 5,000,000 tons/year, and is accessible from the clothing, butchery, and breeding industries [3, 4].

The bird chicken feathers consist of about 90 % of the structural protein, keratin, which is not a single material, but a complex protein mixture [5].

The two most abundant forms of keratins are called α-keratins (contains α-helical structure) and b-keratins (contain a mixture of α-helical and β-sheet structures) [6].

α-Keratin is found most commonly in mammals. Such type of structure is structured as a coiled-coil and thus participates in the elongated polypeptide chain in the compact structural arrangement. On the other side, the β-structure holds intermolecular bonding of hydrogen between the amino and carbonyl groups [7]. Keratins are characteristically highly stable and low solubility due to the –S – S– crosslinking of residues of cysteine amino acids [8, 9].

The most distinguishing characteristic of keratin at the molecular level is the high concentration of half-cystine residues (7%-20% of total amino acid residues), most of which are found in the protein terminal regions [10].

Moreover, keratin extracted using different extraction processes can find applications in numerous sectors, the denaturing extraction methods are classified into reductive or oxidative methods, sulphites- or phosphines-mediated extraction[11], enzymatic hydrolysis[3] and ionic liquids

* *Corresponding author*. Tel.: +213673283137
E-mail address: bbachir39@gmail.com
Peer review under responsibility of University of Echahid Hamma Lakhdar. © 2020 University of Echahid Hamma Lakhdar. All rights reserved.
*http://doi.org/10.5281/zenodo.3930645*http://dx.doi.org/

[12, 13]. This is to prepare the keratin nanoparticles that have important applications in biotechnology.

And on this, a solution might be to synthesize magnetic keratin nanoparticles (MKNPs). As such, MKNPs were prepared via Fe_3O_4 in situ synthesis using the co-precipitation method to overcome the handling and separation disadvantage of KNP in the environmental applications [14]. The extracted keratin was further treated with silver nitrate and zinc oxide for the synthesis of nanoparticles (KNPs) [15].

Among the preparation of Ru-Qr dual drug-loaded keratin nanoparticles for biological applications by (SDS or Sodium lauryl sulfate or Tween-20) under magnetic stirrer. Nanoparticles thus formed turned the solution turbid. Recombinant keratin nanoparticles (RKNPs) were therefore prepared using an ultrasonic dispersion method to determine their wound-healing effect [16, 17].

Too, keratin particles have also been prepared with this in mind the effect of important electrospraying conditions such as polymer concentration, feed rate, voltage, and nozzle-collector distance on the average particle size of the electrosprayed nanoparticles [18].

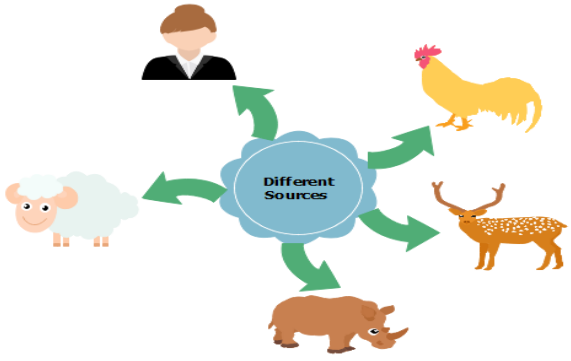


Fig 1. Different sources of keratin.

2. Extraction Methods

Keratin can be obtained by different extraction methods (Fig. 2).

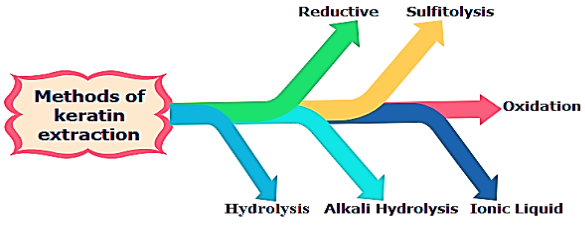


Fig. 2. Methods of keratin extraction.

2.1. Reductive Extraction

Some of the benchmark reduction processes for obtaining semi-native keratins appropriate for biomedical applications include wool solubilization with 2-mercaptoethanol (2-ME), as a chaotropic agent in a solution buffered at pH= 9.5, and 8 M urea; the alkali media induces partial unfolding of the tightly packed keratin composition and favors the reduction reaction [19]. More extraction includes extracting reducing agent and denaturant from either the reaction mixture through dialysis where there is an undesirable association of keratin peptides. And it was done analyzed the molecular structure of keratin derived from wool through reduction: extracted from SDS-PAGE electrophoresis, molecular weight proteins homologs as well as 40–60 kDa.

2.2. Sulfitolysis Method

At 65 °C, 4 g of wool fibers were handled with 100 mL of an aqueous solution comprising urea (8M), sodium metabisulfite (0.5 M), modified to pH=7 with NaOH (5 M) under shaking using a 2.5 h Linitest unit. The mixture was purified through a 5 mm pore-size filter and dialyzed against sterile water in a circulation system with the cellulose dialysis tube (molecular weight cut off 12–14 kDa) [20].

2.3. Oxidation Method

The process by which keratin was extracted from wool was modified as follows. Fibers in 2 % peracetic acid are oxidized overnight at 37 rpm and 180 rpm, then drained and washed with water. The oxidized fibers were then removed 2 rpm with 100 mM Tris-base (pH 10.5) at 37 rpm for 3 h and 180 rpm, and 1 rpm with water. Samples were collected from 0.5 M HCl to precipitate protein and modified to pH 4. It has required precipitated protein to settle overnight. The liquid phase was decanted and the precipitate was washed at pH 4 of 100 mM Tris-HCl and then redissolved at Tris-base of 100 mM, pH ~ 7.5 [21].

2.4. Hydrolysis Method

Keratin hydrolysate was processed using a 400 mL ceramic autoclave put in a microwave oven, Landmark Ethos 1600 (Milestones S.p. A., Bergamo, Italy), to handle 40 g of wool in 150 mL superheated water for 30 minutes at 170 °C. At the end of the cycle, the autoclave was cooled, and a 120 mesh stainless steel sieve filtered the resulting liquid. Further filtering of the liquid process was performed using a tangential flow filter (Millipore Pellicon XL) of 0.65 mm pores [20].

Table 1. keratin extraction by different methods [11].

Methods	Extraction solution	Operating Conditions	Yield (%)	References
Reduction	Urea=8 M; Thioglycolic acid=0.2 M; pH=11	Temperature (°C) = 50°C ; Time(h)=3h	70	[1]
	Urea=8 M; DTT=0.2 M EDTA=3 mM; 0.2 M Tris–HCl pH= 9	Temperature (°C) = 20°C ; Time(h)=16h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = ////	60	[23]
	Urea=8 M; DTT= 0.14 M; 0.05 M Tris–HCl pH= 8.6	Temperature (°C) = 25°C ; Time(h)=4h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/50	50	[4]
	Urea=8 M; L-cysteine =0.165 M; NaOH up to pH= 10.5	Temperature (°C) = 75°C ; Time(h)=12h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/10	72	[24]
	TCEP/$Na_2S_2O_5$	Temperature (°C) = 80°C ; Time(h)=5h	80	[25]
Alkaline Hydrolysis	Wool (10 g) treated with 2 wt% NaOH with HCl to pH = 7	Temperature (°C) = 80°C ; Time(h)=3h	25	[1]
	0.5 N NaOH (pH 13.9)	Temperature (°C) = 62-65°C ; Time(h)=3h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/20	/	[26]
	Wool mixed with an alkali the solution of KOH: NaOH (14:1) at 0.5 to 3% (w/v)	ultrasonic irradiation for 30 min using a 20 kHz sonicator (40% amplitude of 750 W)	100	[27]
	NaOH solution (10 g/L)	Temperature (°C) = 120°C ; Time(min)= 10min ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/10	53.5	[28]
Ionic Liquids (ILs)	[Bmim][Cl]	Temperature (°C) = 120°C ; Time(h)= 0.5 h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/6	57	[11]
	[Bmim][Cl]	Temperature (°C) = 120°C ; Time(h)= 0.5 h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/10	78.5	
	[Bmim][OAc]	Temperature (°C) = 120°C ; Time(h)= 0.5 h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/10	16.8	

	[Emim][DEP]	Temperature (°C) = 120°C ; Time(h)= 0.5 h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/10	70.2	
Sulphitolysis	Urea=8 M; Sodium metabisulphite= 0.5 M; NaOH up to pH=6.5; SDS (g)/wool = 0.6	Temperature (°C) = 60°C ; Time(h)=5h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/15	41	[1]
	Urea=8 M; Sodium metabisulphite=0.5 M; NaOH up to pH = 6.5	Temperature (°C) = 100°C ; Time(h)=5h ; Ratio (solid:liquid) (w/w) = 1/30	22	[29]
	Urea=8 M; LiBr=0.1 M; SDS= 0.02; NaOH pH=12	Temperature (°C) = 90°C ; Time(h)= 4 h	50	[30]

2.5. Alkali Hydrolysis

Alkali hydrolysis was conducted at 80 °C with 2 % NaOH (wt.) until the fibers were fully solubilized in 3 h. The sample was then neutralized, centrifuged, dialyzed, and lyophilized with HCl. This process has the lowest keratin extraction yield (~25 %) determined by the ratio between the weight after lyophilization and the original weight of the wool relative to the other procedures; It is possibly due to extensive protein hydrolysis that would lead to a large amount of protein lost during dialysis [1, 11].

2.6. Ionic Liquid

The extraction of keratin using BMIM was performed to use a process described earlier. In short, wool fiber snippets were gradually added to BMIM IL at 130 ° C at a ratio of 1:10 (w / w) wool to BMIM after 120min full dissolution of fiber was observed [12]. The resultant hot viscous solution was decanted to precipitate the keratin protein into distilled water at room temperature [22].

It has also been found, in general, that the degree of the success of the reaction depends strictly on the nature of the extract solution, the method variables, and the form of starting keratin biomass wool (Table 1).

3. KNP Synthesis

3.1. Method 1

In deionized water, keratin powder isolated from wool and doxorubicin hydrochloride (DOX) was dissolved separately at a final concentration of 1 mg / mL and 2 mg / mL respectively. Then, using a 450 nm filter cut-off, the keratin aqueous solution was filtered and held under stirring 730 rpm during the dropwise application of varying quantities of doxorubicin. The sum of keratin-related doxorubicin added varied from 5 to 45 wt%. The mixture was held for 60 min under stirring and deposited overnight at 4 ° C. Afterwards, the mixture was dialyzed against deionized water with a cellulose membrane (cut off 12–14 kDa) for 24 h to extract free doxorubicin and then centrifuged for 10 min at 4000 rpm to eliminate particle aggregate (Fig.3). Finally, a specified supernatant volume was frozen, and the resulting powder was weighted to determine the yield of keratin nanoparticles [31].

3.2. Method 2

The keratin sponge was dissolved in formic acid (0.3% w/v) at 70 °C for 24 h under magnetic stirrer to prepare the electrospraying solutions (Fig.4) . Keratin sponge will only be dissolved up to 5 percent in formic acid. Considering that no prior knowledge on electrospraying keratin solution was available, a spectrum was considered for each of the essential parameters of electrospraying; In specific, test and error concentration (levels of 0.5, 1.5 and 2% w/v), voltage (15, 20 and 25 kV), nozzle tip to collector distance (10, 15 and 25 cm) and feed velocity (0.02–0.04 ml / h) and the mixture of conditions were chosen for the processing of small-size electrosprayed keratin nanoparticles. For the concentration of keratin polymer in the electrospraying solution, And the distance between the nozzle-collector and the total particle size of electrosprayed nanoparticles. Tests revealed that for the electrospraying keratin nanoparticle, the correct concentration of keratin in formic acid was around 0.5% (w / v) [18].

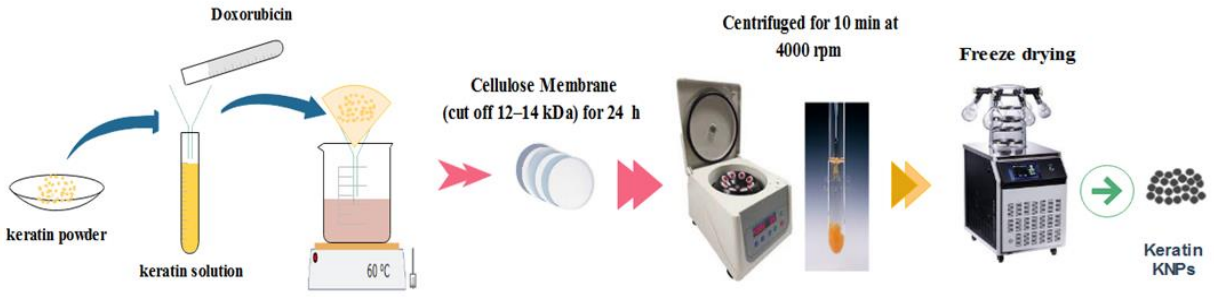


Fig. 3. Preparing nanoparticles for Keratin by doxorubicin.

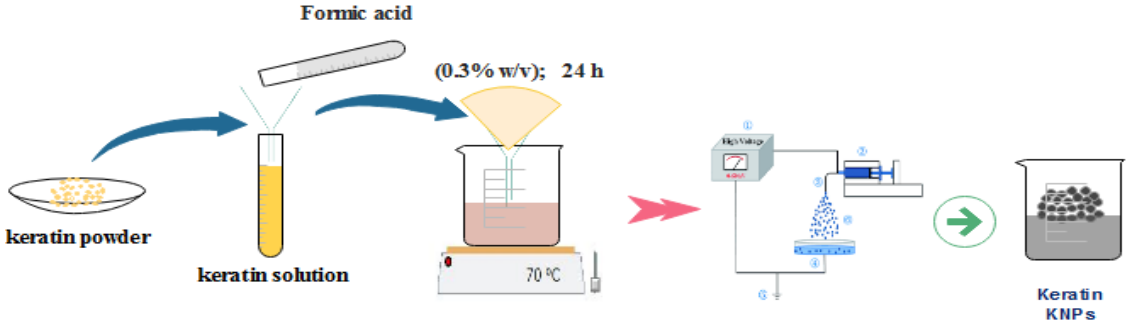


Fig. 4. Synthesis of nanoparticles Keratin by electrospraying.

3.3. Method 3

Synthesis of magnetic keratin nanoparticles (MKNPs), 0.540 g of ferric chloride, and 0.199 g of ferrous chloride (2:1 molar ratio) are dissolved in aqueous KNP dispersion (0.5 g / L, 100 mL). A three-necked synthesis flask was used. The solution was mixed and degassed for about 30 min with the use of argon as a neutral gas. The chemical co-precipitation of Fe^{2+} and Fe^{3+} happened after immediately applying 7 mL of ammonium hydroxide at an average temperature of 22 °C and for 30 min under intense stirring at 1000 rpm. The MKNPs were isolated using a magnet after the reaction, and washed with deionized water three times[14].

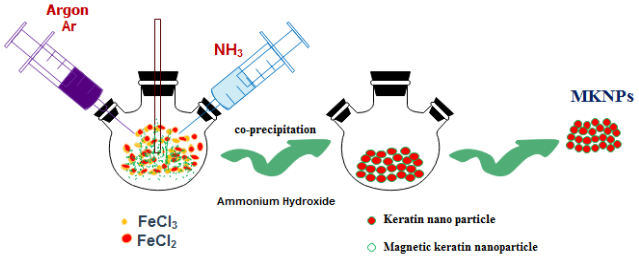


Fig. 5. Synthesis nanoparticles for Keratin by Fe_3O_4.

4. Conclusion

Keratin is one of the easiest natural materials to fill in as an effective protective surface layer, even though it is made simply of proteins. It shows incredible potential for new bioinspired models in which there is an intense knowledge of the natural chemistry, structure, and mechanical properties.

Developing techniques for effective poultry biomass production of keratin should prove to be very useful for the sustainable management of huge waste. Researchers are working independently and in combination, mode to establish different chemical, biological, and physical methods for keratin extraction. Denaturing techniques, such as methods based on reduction, oxidation, and sulphitolysis, are the benchmark for obtaining good yields and undamaged keratins.

Keratin-based materials are commonly used in the form of powders, micro/nanoparticles, keratin nanoparticles, and samples of an average particle size of 36–72 nm were processed using electrospray techniques. To sum up, the anticancer drug doxorubicin was successfully encapsulated into keratin nanoparticles using ionic gelation and aggregation processes, magnetic keratin was synthesized as

a new nanocomposite to overcome the problem of handling and isolation coexisting with keratin nanoparticles (KNPs). The nanocomposite was prepared in a dilute aqueous solution of KNPs by the in-situ synthesis of Fe_3O_4.

Acknowledgements

This work is supported by the research laboratory LAIGM of Guelma University, Algeria.

References

[1] A. Shavandi, A. E.-D. A. Bekhit, A. Carne, and A. Bekhit, "Evaluation of keratin extraction from wool by chemical methods for bio-polymer application," *J Journal of bioactive compatible polymers*, vol. 32, no. 2, pp. 163-177, 2017.

[2] A. Shavandi, T. H. Silva, A. A. Bekhit, and A. E.-D. A. Bekhit, "Keratin: dissolution, extraction and biomedical application," *J Biomaterials science*, vol. 5, no. 9, pp. 1699-1735, 2017.

[3] A. Onifade, N. Al-Sane, A. Al-Musallam, and S. Al-Zarban, "A review: potentials for biotechnological applications of keratin-degrading microorganisms and their enzymes for nutritional improvement of feathers and other keratins as livestock feed resources," *J Bioresource technology*, vol. 66, no. 1, pp. 1-11, 1998.

[4] M. Zoccola, A. Aluigi, and C. Tonin, "Characterisation of keratin biomass from butchery and wool industry wastes," *J Journal of Molecular Structure*, vol. 938, no. 1-3, pp. 35-40, 2009.

[5] F. Pourjavaheri-Jad, R. Shanks, M. Czajka, and A. Gupta, "Purification and characterisation of feathers prior to keratin extraction," in *The 8th International Engineering Congress & Exhibition, Kish, Irã*, 2014.

[6] P. Kakkar, B. Madhan, and G. Shanmugam, "Extraction and characterization of keratin from bovine hoof: A potential material for biomedical applications," *J SpringerPlus*, vol. 3, no. 1, p. 596, 2014.

[7] F. H. Crick, "Is α-keratin a coiled coil?," *J Nature*, vol. 170, no. 4334, pp. 882-883, 1952.

[8] A. Brandelli, "Bacterial keratinases: useful enzymes for bioprocessing agroindustrial wastes and beyond," *J Food Bioprocess Technology*, vol. 1, no. 2, pp. 105-116, 2008.

[9] M. Feughelman, "Natural protein fibers," *J Journal of Applied Polymer Science*, vol. 83, no. 3, pp. 489-507, 2002.

[10] J. Hearle, "A critical review of the structural mechanics of wool and hair fibres," *J International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 27, no. 2, pp. 123-138, 2000.

[11] S. Sharma and A. Kumar, *Keratin as a Protein Biopolymer*. Springer, 2019.

[12] H. Xie, S. Li, and S. Zhang, "Ionic liquids as novel solvents for the dissolution and blending of wool keratin fibers," *J Green Chemistry*, vol. 7, no. 8, pp. 606-608, 2005.

[13] P. Sun, Z.-T. Liu, and Z.-W. Liu, "Particles from bird feather: A novel application of an ionic liquid and waste resource," *J Journal of hazardous materials*, vol. 170, no. 2-3, pp. 786-790, 2009.

[14] S. Z. Mousavi, M. Manteghian, S. A. Shojaosadati, and H. Pahlavanzadeh, "Preparation and characterization of magnetic keratin nanocomposite," *J Materials Chemistry Physics*, vol. 215, pp. 40-45, 2018.

[15] T. Hemashree, S. G. Prasunna, and P. Sakthiselvan, "Synthesis of Keratin Nanoparticle and Characterization using FTIR," *J Research Journal of Pharmacy Technology*, vol. 12, no. 6, pp. 2664-2668, 2019.

[16] S. Kunjiappan, A. Chowdhury, B. Somasundaram, C. Bhattacharjee, and S. Periyasamy, "Optimization, preparation and characterization of rutin-quercetin dual drug loaded keratin nanoparticles for biological applications," *J Nanomedicine Journal*, vol. 3, no. 4, pp. 253-267, 2016.

[17] F. Gao *et al.*, "Recombinant Human Hair Keratin Nanoparticles Accelerate Dermal Wound Healing," *J ACS applied materials interfaces*, vol. 11, no. 20, pp. 18681-18690, 2019.

[18] F. Ebrahimgol, H. Tavanai, F. Alihosseini, and T. Khayamian, "Electrosprayed recovered wool keratin nanoparticles," *J Polymers for advanced technologies*, vol. 25, no. 9, pp. 1001-1007, 2014.

[19] I. O'donnell and E. Thompson, "Studies on reduced wool," *J Australian Journal of Biological Sciences*, vol. 17, no. 4, pp. 973-978, 1964.

[20] H. Rajabinejad, M. Zoccola, A. Patrucco, A. Montarsolo, G. Rovero, and C. Tonin, "Physicochemical properties of keratin extracted from wool by various methods," *J Textile Research Journal*, vol. 88, no. 21, pp. 2415-2424, 2018.

[21] E. M. Brown, K. Pandya, M. M. Taylor, and C.-K. Liu, "Comparison of methods for extraction of keratin from waste wool," *J Agricultural Sciences*, vol. 7, no. 10, p. 670, 2016.

[22] A. Ghosh, S. Clerens, S. Deb-Choudhury, and J. M. Dyer, "Thermal effects of ionic liquid dissolution on the structures and properties of regenerated wool keratin," *J Polymer degradation stability*, vol. 108, pp. 108-115, 2014.

[23] J. Gillespie, "The high-sulfur proteins of α-Keratins: Their relation to fiber structure and properties," in *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia*, 1967, vol. 20, no. 1, pp. 201-214: Wiley Online Library.
[24] B. Wang, W. Yang, J. McKittrick, and M. A. Meyers, "Keratin: Structure, mechanical properties, occurrence in biological organisms, and efforts at bioinspiration," *J Progress in Materials Science*, vol. 76, pp. 229-318, 2016.
[25] J. B. Wang, J. Y. Liu, J. Wang, and D. S. Bin, "The efficient wool keratin dissolution based on new reductant," in *Advanced Materials Research*, 2012, vol. 441, pp. 656-660: Trans Tech Publ.
[26] J. M. Cardamone, "Investigating the microstructure of keratin extracted from wool: Peptide sequence (MALDI-TOF/TOF) and protein conformation (FTIR)," *J Journal of molecular structure,* vol. 969, no. 1-3, pp. 97-105, 2010.
[27] C. R. Holkar, A. J. Jadhav, P. S. Bhavsar, S. Kannan, D. V. Pinjari, and A. B. Pandit, "Acoustic cavitation assisted alkaline hydrolysis of wool based keratins to produce organic amendment fertilizers," *J ACS Sustainable Chemistry Engineering,* vol. 4, no. 5, pp. 2789-2796, 2016.
[28] Y. Tsuda and Y. Nomura, "Properties of alkaline-hydrolyzed waterfowl feather keratin," *J Animal science journal*, vol. 85, no. 2, pp. 180-185, 2014.
[29] C. Tonin, A. Aluigi, C. Vineis, A. Varesano, A. Montarsolo, and F. Ferrero, "Thermal and structural characterization of poly (ethylene-oxide)/keratin blend films," *J Journal of thermal analysis calorimetry,* vol. 89, no. 2, pp. 601-608, 2007.
[30] C. H. Zeng and Q. Lu, "Study on the recovery of waste wool by combining reduction and metallic salt methods," in *Advanced Materials Research*, 2014, vol. 881, pp. 551-555: Trans Tech Publ.
[31] A. Aluigi *et al.*, "Organic solvent-free preparation of keratin nanoparticles as doxorubicin carriers for antitumour activity," *J Materials Science Engineering: C*, vol. 90, pp. 476-484, 2018.

Recommended Citation
Bachir Ben Seghir, Hadia Hemmami, Zeghoud Soumeia, Salah Eddine Laouini, Abdelkrim Rebiai, Ilham Ben Amor, Imane Souici, Ahlam Beki. (2020). Preparation methods keratin and nanoparticles keratin from wool: a review. Algerian Journal of Chemical Engineering, http://doi.org/10.5281/zenodo.3930645http://dx.doi.org/.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License

ملخص

في هذا العمل تمت دراسة تأثير العوامل المختلفة (تركيز الثيوريا و بيروكبريتيت الصوديوم، درجة الحرارة و الوقت) على مردود إستخلاص الكيراتين من صوف الغنم، حيث تم إستخدام طريقة سطح الإستجابة (RSM) ، و إختيار خطة Box-Behnken لتحديد الظروف المثلى في عملية تحسين إستخلاص الكيراتين بإستخدام برنامج Design-Expert، وقد شملت هذه الدراسة مرحلتين، حيث أجرينا في مرحلة الأولى دراسة تغير تركيز الثيوريا مع تثبيت تركيز بيروكبريتيت الصوديوم و تم تجسيد النتائج المتحصل عليها على شكل النموذج الرياضي للتنبؤ، يمكن من خلاله الحصول على ظروف المثلى لإستخراج الكيراتين، و وفقا لتحليل التباين ANOVA فإن النموذج الذي تم الحصول عليه جيدا جـــــدا ($P < 0.05$) ، وهذا يتوافق مع معاملات الإنحدار $R^2 = 0.9998$ و $R^2adj = 0.9991$، وفي مرحلة الثانية تم تغير تركيز بيروكبريتيت الصوديوم مع تثبيت تركيز الثيوريا وفي الأخير تم الحصول على معاملات الإنحدار $R^2 = 0.9787$ و $R^2adj = 0.9403$.

الكلمات المفتاحية: الصوف ، الكيراتين، منهجية سطح الإستجابة (RSM) ،الظروف المثلى.

Abstract

In this work, the effect of various factors (Thiourea and Sodium Pyrosulphite concentration, temperature and time) on the yield of keratin extraction from sheep's wool was studied, as the response surface method (RSM) was used, and a Box-Behnken plan was chosen to determine the optimum conditions in the process of improving Keratin extraction using Design-Expert Software, and this study included two phases, where we conducted in the first phase a study of the variation in the concentration of Thiourea with the fixation of the concentration of Sodium Pyrosulphite and the results obtained were embodied in the form of a mathematical model of prediction, in which the optimal conditions for the extraction of keratin could be obtained, According to ANOVA the model obtained was very well ($P < 0.05$), and this corresponds to the regression coefficients $R^2 = 0.999$ and $R^2adj = 0.9991$, and in the second stage the Sodium Pyrosulphite concentration changed with the stabilization of the Thiourea concentration and in the last regression coefficients were obtained $R^2 = 0.978$ and $R^2adj = 0.94$.

Keywords: Wool, Keratin, Surface Response Methodology (RSM), Optimum Conditions.