دراسة الفعاليه المضادة للأكسدة للكاتكينات المستخلصة من بذور العنب شدة سوداء وبيضاء ومخلفات العنب المعصور

Study of o Catechins as Antioxidant Extract from black, white shada seeds and waste of squeezed grape

*اشراق منير محمد نضال محمد صالح أكرم ثابت
كلية الزراعة/ جامعة بغداد
Ashraq Monir * Nidhal Mohammad Akram Thabet
College of Agriculture/ University of Baghdad

المستخلص

استخلصت الكاتكينات من بذور صنفي العنب شدة سوداء وبيضاء و مخلفات العنب المعصور كلا على انفراد بمزج النماذج مع الماء المقطروبنسبة (10:1) ثم اكمال الاستخلاص مع خلات الاثيل (1:1) حجم/حجم وشخصت المكونات الفعاله في المستخلصات المستحصل عليها باستعمال تقنية الأشعة تحت الحمراء (IR). قدرت فعاليه المستخلصات المضادة للاكسدة بتقديرها بطريقتين الاولى طريقة قصر البيتا كاروتين (β-Carotene Bleaching Test) اذ وجد بان مستخلص بذور العنب الأسود والمخلفات تمتلك فعالية عالية ضد التاكسد بمقدار 64 و52 غم/كغم على الترتيب مقارنة مع مضاد الأكسدة الصناعي BHT وفعاليتها كمضاد أكسدة اقل عند مقارنتها مع PG (بروبيل جاليت)اذ بلغ حاصل مكافئ مضاد الأكسدة لهما 48 و41.6 غم/كغم مقارنة مع PG, في حين توسط مستخلص بذور العنب الأبيض حاصل مكافئ المستخلصين السابقين و كانت قيمته 48 و 36غم/كغم مقارنة بمضادي الأكسدة BHT وPG على الترتيب ، والطريقة الثانية هي تقدير قيمة البيروكسيد (POV) (Peroxide Value) في زيت زهرة الشمس ولمدة 14 يوماً في درجة حرارة (65)م . وأشارت نتائج فحص طريقة قصر البيتا- كاروتين (Carotene– β-Bleaching Test) واختبار الرقم البيروكسيدي (POV) إلى إن المستخلصات قيد التجربة أظهرت فعالية مضادة للأكسدة وكانت فعاليتها مشابهه لتلك التي أبدتها مضادات الأكسدة الصناعية بيوتليتد هيدروكسي تولوين BHT و بروبيل جاليت PG .

الكلمات المفتاحيه : الكاتكينات،مضادات الاكسدة، بذور العنب

ABSTRACT

Catechins were extracted from black shada, white shada seeds and waste of squeezed grape by mixed each sample with distilled water(1:10), with ethyl acetate(1:1) v/v. Detection of active compounds in the extracts done using IR technique β-carotene bleaching test and peroxide value(POV). Results showed that the black grape seed and the waste of squeezed grape have high antioxidant activity(64 and 52 g/k grespectively), in comparison with BHT, while it was lower than PG which were 48 and 41.6g/kg compared with PG. On the other hand white grape seed extraction was in the middle between obvious two extractions and was 48 and 36g/kg in comparative with BHT and PG respectively. Peroxide value was determined in sunflower oil for 14 days at 65°c, and showed that these extractions have antioxidant activity and similar to butylated hydroxyl toluene BHT and propyl galate PG.

Keyword: Catechins extract from grape seeds, Antioxidant Extract from grape seeds

المقدمة:

نالت مضادات الأكسدة الطبيعية الموجودة في النباتات المستعملة كغذاء كثيراً من الاهتمام بسبب تأثيرمضادات الأكسدة الصناعية في الجانب الصحي فضلاً على أن بعض الصفات الفيزيائية غير المقبوله كعدم ثباتيتها في درجات الحرارة العالية وقابليتها للتطاير [1]. وبما أن النظام الغذائي يعد مصدراً للمواد المضادة للأكسدة التي تساعد في حماية الجسم من الأضرار التي تسببها الجذور الحرة ، وثبت بأن النباتات التي تحوي مركبات الفلافونويدات تمتلك خصائص مضادات أكسدة قوية [4,3,2]، إذ وجد أنها تعمل على ثباتية المواد الغذائية من خلال تأخير وإعاقة حدوث ظاهرة التزنخ و إطالة مدة الصلاحية [6,5] ويعتقد بأن الإجهاد ألتأكسدي للدهون عاملاً مهماً في تطور مرض تصلب الشرايين [7] . وأثبتت عدد من الدراسات أن المركبات الفلافونويدية مثل الكورسيتن (Qurecetin) تعد المساهم الرئيسي في نشاط مضاد الأكسدة . [9,8] تعد بذور العنب واللب مصادر جيدة للكاتكين (Catechin) والأبي كاتكين (EC) و حام ـض الجالـيك(Gallic acid) والبروانثوسيانيد (Proanthocyanid) و هي مواد أولية مناسبة لإنتاج مضادات أكسدة غذائية. فقد وجد أن لكاتيكنات الشاي الأخضر و EGCG فعالية لمعادلة الجذور الحرة تزيد مقدار 100 مرة عن الفعالية المضادة لأكسدة فيتامين C و [12] , كما أن فعلها يفوق بقية مضادات الأكسدة الصناعية مثل BHT , BHA و Resveratol [13]. ومن ثم فهي تكون فعالة أكثر في الأنسجة وتحمي الخلايا من الدمار الذي يؤدي إلى أمراض عديدة وبالخصوص السرطان [14]. توصل [15] إلى دور المركبات الفينولية في تثبيط أكسدة (Low Density Lipo Protein) داخل الجسم الحي من خلال استخلاص مركبات الكاتكين (Catechin) والبروسياندين الثنائي (Dimer Procyanidin) بأنواعه العديدة (B1، B4 ، B6، B8) وعزلها وتنقيتها من بذور العنب , فوجد بأن كل من الكاتكين (C) والأبي كاتكين (EC) تمتلك أعلى فعالية مضاده للأكسدة , و المركبات

البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الاول

الاحادية مثل Gallic acid والكورستين (Quircetin) وكذلك Caffeic acid والروتين (Rutin) ، ومجموعة المركبات التي تتضمنB6 و Ellagic acid لها فعالية واطئة ضد الأكسدة .

تساهم مركبات الفلافونويدات في قتل الخلايا السرطانية وتمنع نمو الورم حيث أن المواد الفينولية الموجودة في العنب من المواد المضادة للأكسدة ومـــن ثم فهي ذات صلة بالسرطانات النسائية مثل سرطـــان الثدي [16] وثبت بأن الفينولات الرئيسية في عصير العنب الأحمرمثل الكورستين (Quercetin) والكـاتكين (Catechin) له خواص مضادة للسرطان [17]. وتمثل مركبات الكورستين و الكاتكين 7% من مركبات الفينولات المتعددة في عصير العنب الأحمر [19,18] فضلاً على انه يتم امتصاصها في الجسم الحي وإنها نجحت في موت الخلايا السرطانيـــة [20]. إذ أن EGCG و Catechin هي المركبات الرئيسية في الشاي الأخضر ولها نشاط بايولوجي تجاه سرطان الجلد والرئة والكبد والقولون و المعدة[21]. هدف البحث إلى اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلص بذور العنب شدة سوداء وبيضاء ومخلفات عصير العنب كمضادات أكسدة طبيعية بطريقة قصر البيتا- كاروتين , ومن خلال إضافة المستخلص إلى زيت عباد الشمس ومقارنته مع مضادات الأكسدة الصناعية BHT و PG. وبهدف الاستفادة من مخلفات التصنيع الزراعي المتمثلة بالمخلفات الزراعية بوساطة استخلاص مكوناتها الفعالة بالماء وبمذيبات مختلفة للتعرف على فعاليتها كمضادات اكسدة والاستفادة منها.

المواد وطرائق العمل

المادة الخام

جمعت ثمار العنب من احدى بساتين محافظة صلاح الدين/ قضاء بلد/ السراجي للحصول على نماذج التجربة للموسم 2009 -2010. تم فصل البذور عن اللب والهيكل لكل النماذج, اذ تم غسلها بماء الحنفية الجاري ثم جففت بالفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40م وحفظت في علب معتمة داخل الثلاجة لحين الاستعمال. أما مخلفات عصير العنب المستحصل عليها من احد محلات أعداد شربت الزبيب/ بغداد/حي الجامعة غسلت بماء الحنفية الجاري ثم جففت بالفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40 م وحفظت في علب معتمة داخل الثلاجة لحين الاستعمال .

زيت زهـــــرة الشمس

تم الحصول على زيت زهرة الشمس المكررخال من مضادات الأكسدة من المنشأة العامة للزيوت النباتية - معمل الرشيد- بغداد.

طريقة استخلاص الكاتكينات

وضع 10 غم من مسحوق بذور صنفي العنب كلا على انفراد في وعاء زجاجي حجم 250 مل وأضيف إليهما 100 مـل ماء مقطـر مغلي ثم مزجت بمحرك مغناطيسي بدرجة حرارة 95 م لمـدة 30 دقيقة, رشح المستخلص بـــورق الترشيح Whatman No.1 باستعمال قمع بخنر مع التفريغ, ركز الراشح الناتج إلى الربع بالمبخر الدوار ثم أضيف اليه خلات الاثيل و بكمية مساوية لحجم المستخلص اتبعها فصل بأقماع الفصل, أهملت الطبقة المائية وجمعت الطبقة الحاوية على خلات الاثيل كررت هذه العملية ثلاث مرات متتالية ركز بعدها المستخلص بالمبخر الدوار بدرجة حرارة 40م بهدف التخلص من المذيب والحصول على المستخلص المتبقي المتمثل بالكاتكينات (Catechins) [23,22]. جفف المستخلص المركز بالفرن الكهربائي بدرجة حرارة 40م ثم أعيد إذابته بإضافة 5 مل ماء مقطر وعقم بإمراره على أوراق ترشيح مايكروبايولوجية قطر فتحاتها 0.45 مايكرومتر .

فصل وتشخيص الكاتكينات في بذور صنفي العنب شدة سوداء وبيضاء ومخلفات عصير العنب باستعمال تقنية الأشعة تحت الحمراء(Infra Red Spectra (IR

سجلت أطياف الأشعة تحت الحمراء لمستخلصات بذور صنفي العنب والمخلفات باستخدام أقراص كلوريد الفضة AgCl لغرض التعرف على المجاميع الفعالة في المستخلصات, واستعملت أقراص بروميد البوتاسيوم KBr لتحليل المركبات القياسية والمتمثلة بالكاتكين Catechin-(+) والآبي كاتكين (Epicatechin-(-) و Pyrogallol, اجري الفحص في قسم الكيمياء/مختبر الأطياف الجزيئية/ وزارة العلوم والتكنولوجيا.

فعالية مستخلص بذور صنفي العنب الأسود والأبيض ومخلفات عصير العنب كمضاد للأكسدة

1- طريقة قصر البيتا – كاروتين (β -Carotene Bleaching Test)

استعملت هذه الطريقة لمعرفة فعالية المستخلصات كمضادات أكسدة ، إذ يمتاز هذا الاختبار ببساطته وإمكانية استعماله لغربلة مجموعة كبيرة من النباتات للتعرف على فعاليتها كمضادات للأكسدة كما أنها تعتمد على النظر للاستدلال على النتائج إذ اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل [24]. وذلك بمزج 11 مل من الاكار (1.5%) و 4 مل من حامض اللينوليـك (Linoleic acid)المذاب في الايثانول 5 غم/ لتر و 20 مل من الأسيتون المذاب في البيتا – كاروتين (Carotene- β) (1غم / لتر), اصبح حجم المزيج النهائي 35 مل وبعدمزجه جيدا صب في أطباق بتري وترك ليتصلب, ثم عملت 4 حفر بسعة 50 مايكروليتر وصب الاكار في كل منها بمقدار (25-30 مايكروليتر) بتركيز 1.5% و حقن في كل حفرة 20 مايكروليتر من الأنموذج المذاب في الايثانول 2% وغطيت بغطاء زجاجي Cover slide وحقن في احدى الحفر الايثانول وأعطي له رقم 0 وأعتبر نموذج مقارنة لفعالية الأكسدة وحقن في الحفرة الثالثة مضاد الأكسدة الصناعي BHT 2% وأعطي له رقم 5 لفعاليته كمضاد أكسدة وفي الحفرة الرابعة مضاد الاكسدة الصناعي PG وأعطي له رقم 5 لفعاليته كمضاد أكسدة وغطيت الحفر بالغطاء الزجاجي Cover slide وتركت 24 ساعة بدرجة حرارة الغرفة30م. ثم قورنت الهالة المتكونة حول الحفرة للأنموذج مع الايثانول ومضادي الأكسدة الصناعيين وأعطيت أرقام للنماذج مابين 0-5 ثم طبقت المعادلة الآتية

$$E_q = Y_1 \times \frac{AAi}{AA}$$

Eq:- حاصل مكافئ الأكسدة (كمية حاصل المستخلص من 1كغم نبات الذي له فعالية مضادة للأكسدة مساوية إلى مضاد الأكسدة الصناعي).

Y_1 : - حاصل المستخلص (غم/كغم).

AAi :- الفعل المضاد للأكسدة لحاصل المستخلص تبعا إلى CBT- β (0-5 درجة).

AA:- الفعل المضاد للأكسدة للمضادات الصناعية المستعملة في الاختبار(5 درجة).

2- تقـدير قيمـــة البيروكسيد (POV) Peroxide Value) فـي زيت زهرة الشمس

اضيفت مضادات الأكسدة الصناعية بيـوتل هايدروكسيل تولوين (BHT) وجالات البروبيـــك (propyl galate) والمستخلصات النباتية لبذور صنفي العنب ومخلفات عصير العنب إلى الكحول الاثيلي المطلق وأضيفت إلى زيت زهرة الشمس بحيث تساوى التركيز النهائي لمضادات الأكسدة الصناعية 0.02% في الزيت حسب ما أشار إليه [25] والمستخلصات الثلاثة بتركيز 0.04%, ثم مزج الخليط جيداً وللتخلص من الكحول وضع الزيت في فرن على درجة حرارة 65م ووضع أنموذج أخر من الزيت والخالي من مضادات الأكسدة وعد أنموذج مقارنة وتمت متابعة كفاءة مضادات الأكسدة من خلال تقدير قيمة البيروكسيد (Peroxide Value) في الزيت ولمدة 14 يوم في درجة حرارة 65م وفقاً لطريقة [26]. اذيب 5 غم من زيت زهرة الشمس في 30 مل من المذيب (60%حامض الخليك و40% كلوروفورم) بعدها اضيف 0.5 مل من محلول يوديد البP وتاسيوم المشبع ثم أضيف بعد مرور دقيقتين مع التحريك المستمر 30 مل من الماء المقطر و0.5 مل من محلول النشا1% وسحح الأنموذج مع 0.1 عياري من محلول ثايو سلفات الصوديوم مع الرج فـــي عملية التسحيح. حسبت النتائج على أساس عدد المكافئات لكل 1000 غم زيت وكالاتي:

$$\text{قيمة البيروكسيد (ملي مكافئ/كغم زيت)} = \frac{1000 \times N \times S}{g}$$

S= مل من ثايو سلفات الصوديوم$Na2S2O3$.

N= عيارية ثايو سلفات الصوديوم$Na2S2O3$.

g= عدد غرامات الزيت.

التحليل الاحصائي

استعمل البرنامج SAS [27] لدراسة تاثير العوامل المدروسة في الصفات المختلفة وقورنت الفروقات المعنوية بين النسب المدروسة باختبار أقل فرق معنوي L.S.D عـند مستوى احتمال 0.05.

النتائج والمناقشة

فصل وتشخيص الكاتكينات في بذور العنب شدة سوداء وبيضاء ومخلفات عصير العنب باستعمال تقنية الأشعة تحت الحمراء Infra Red Spectra(IR)

اظهر قياس الأشعة تحت الحمراء IR لمستخلصات بذور صنفي العنب ومخلفات عصير العنب المستحصلة عليها والمركبات القياسية المتمثلة بالكاتكين Catechin و الكاتيكول Catechol والبايروكالول Pyrogallol للمناطق المميزة للمجاميع الفعالة العائدة لهذه الأجزاء إذ يلاحظ في جدول (1) حزمة امتصـــاص عنـــد التردد الامتطاطـــي Stretching frequencies مابـين 3500-3600 سم $^{-1}$ تعزى إلى التردد الامتطاطي للآصرة O-H والعائدة للماء أو الكحول المثيلي, وحزمة امتصاص 2000 سم$^{-1}$ تعزى إلى التردد الامتطاطي للآصرة N–H العائدة لمجموعة NH3 أما حزمة امتصاص مابين 1400-1500 سم $^{-1}$تعزى إلى التردد الامتطاطي للآصرة -C=C- . وهذا يتفق مع [28] عن الترددات الامتطاطـية لمجموعة (N-H),(C-N),(C=C) في طيف الأشعة تحت الحمراء, و أن ظاهرة الرنين تؤثر في تداخل القمم فتظهر القمم بشكل منحني كل قمتين بقمة واحدة عريضة فالترتيب يكون مع ذرة C أو مع ذرة N ناتج عن التداخل مابين التردد الامتطاطي للآصرة (C=C) والتردد الانحنائي للآصرة (N-H) في مجموعة الأمين [29] . وظهور قمم امتصاص مختلفة الشدة عند المنطقة الواقعة مابين 700- 900 سم $^{-1}$ والعائدة إلى حزم انحناء الآصرة (C-H) الاروماتية, وظهور قمم امتصاص مختلفة الشدة مابين التردد الامتطاطي 740-960 سم $^{-1}$والعائدة إلى حزم انحناء الآصرة (C-H) الاروماتية وظهور حزمة مط الآصرة (C-H) الاروماتية عند 3090 سم[30] $^{-1}$. ويلاحظ في الجدول السابق الذكر أن الأواصر C-H و C= N و C -C=N= موجودة في كل من المستخلصات الثلاث والمركبـات القيـاسية المتـمثلـة بالكاتكـين Catechin والكاتيكول Catechol والبايروكـالـول Pyrogallol , وان حزمة امتصاص 3400 سم $^{-1}$ تعزى إلى التردد الامتطاطي للآصرة S=C–N– الموجودة في مستخلص بذور العنب الأبيض والمخلفات وفي المركب القياسي الكاتكين , وان حزمة امتصاص 3500 سم $^{-1}$ تعزى إلى التردد الامتطاطي للآصرة CONH2 في مستخلص بذور العنب الأسود والمركبين القياسيين الكاتيكول و البايروكالول.

جدول (1): حزم امتصاص الأشعة تحت الحمراء لمستخلصات بذور صنفي العنب ومخلفات عصير العنب والمركبات القياسية Catechin& & Pyrogallol, Catechol .

ت	المستخلص	طول الموجة سم$^{-1}$			
1.	بذور العنب الأسود	900 900-700 Isolated H اروماتيةC-H	1600 $-NH_3^+$ (AZO)C=N	2000 ~2000 C=C=N- Ketenimines	3500 $CoNH_2$- ~3500
2.	بذور العنب الأبيض	900 900-800 Isolated H	1600-1500 $-NH_3^+$	2000 ~2000 C=C=N- Ketenimines	3600 -O-H 3600-3200 3400~ C−N−=S
3.	مخلفات عصير العنب	900 900-800 Isolated H	1600 $-NH_3^+$ (AZO)C=N	2000 ~2000 C=C=N- Ketenimine	3600 -O-H 3600-3200 3400~ C−N−=S
4.	Catechin	900 900-800 Isolated H	1600 $-NH_3^+$ (AZO)C=N	2000 ~2000 C=C=N- Ketenimine	3600 -O-H 3600-3200 3400~ C−N−=S
5.	Catechol	900 900-800 Isolated H	1600-1500 $-NH_3^+$	2000 ~2000 C=C=N- Ketenimine	3500 $CoNH_2$- ~3500
6.	Pyrogallo	900 900-800 Isolated H	1500 1500-1400 -c=c - اروماتية	2000 ~2000 C=C=N- Ketenimine	3500 $CoNH_2$- ~3500

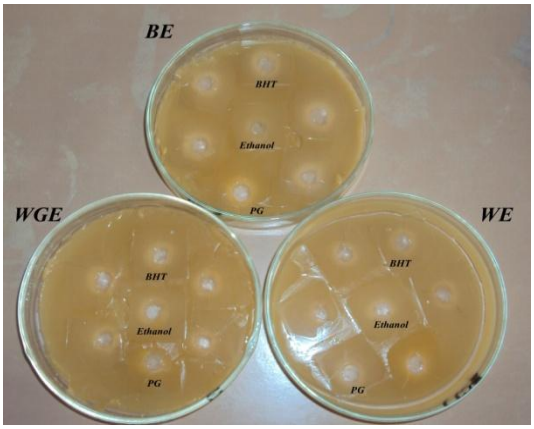
عصير العنب كمضادات أكسدة

طريقة قصر البيتا – كاروتين(Carotene Bleaching Test- β) :-

ان حاصل مستخلص بذور العنب الأسود والأبيض والمخلفات هو 60،80،52 غم من 1000 غم من الأنموذج على الترتيب . ويوضح جدول (2) وشكل (1) قيمة حاصل مكافئ مضاد الأكسدة للمستخلصات مع مضادي الأكسدة الصناعيين BHT ، PG. إذ وجد ان مستخلص بذور العنب الأسود والمخلفات تمتلك فعالية عالية كمضاد أكسدة 64 ،52 غم/كغم على التوالي مقارنة مع مضاد الأكسدة الصناعي BHT وPG اللذان بلغا حاصل مكافئ مضاد الأكسدة لهما 48 و41.6 غم/كغم على التوالي, في حين توسط مستخلص بذور العنب الأبيض حاصل مكافئ المستخلصين السابقين و كانت قيمته 48 و 36غم/كغم مقارنة بمضادي الأكسدة BHT وPG على الترتيب. هذه النتائج وافقت إلى ما أشار إليه [31] بأن لمستخلص بذور العنب فعالية مضادة للأكسدة باستعمال طريقة - Carotene β .

جدول(2): حاصل مكافئ مضاد الأكسدة(غم/ كغم) لمستخلصات بذور صنفي العنب والمخلفات

ت	المستخلص	E_{qBHT} (غم/ كغم)	E_{PG} (غم/ كغم)
1.	بذور العنب الأسود	64	48
2.	بذور العنب الأبيض	48	36
3.	مخلفات عصير العنب	52	41.6



شكل(1) تأثير مستخلص بذور العنب شدة سوداء وبيضاء ومخلفات عصير العنب كمضاد أكسدة بطريقة البيتا - كاروتين

BE: مستخلص بذور العنب شدة سوداء

WE: مستخلص بذور العنب شدة بيضاء

WGE: مستخلص مخلفات عصير العنب

تقدير قيمة البيروكسيد(Peroxide Value(POV في زيت زهرة الشمس

وضح جدول (3) القيمة الابتدائية للبيروكسيد والبالغة 1.6 مللي مكافئ/كغم زيت وهذه تتفق مع المواصفة القياسية العراقية للزيوت النباتية و التي تنص على أن لا تزيد قيمة البيروكسيد عن 10 مللي مكافئ/كغم زيت, كما يلاحظ حدوث زيادة مستمرة في قيم البيروكسيد بتقدم مدة الخزن إلى أن تصل إلى أقصى قيمة لها والبالغة 19.6 ، 19.2, 22, 20, 18, 24 مللي مكافئ/كغم زيت بعد 8 أيام لمعاملة المقارنة و10 أيام لمعاملة BHT و PG ومستخلصات بذور العنب الأسود والأبيض والمخلفات على التوالي ثم حدث بعدها انخفاض سريع لهذه القيم نتيجة لتحطم البيروكسيدات [32] . تظهر النتائج بان المعاملة بالمستخلصات الثلاث حدت من تطور قيم البيروكسيد للمدة الزمنية نفسها التي استغرقها مضادا الأكسدة BHT و PG وكانت القيم اقل من معاملة المقارنة التي كانت أسرع وصولاً لأقصى قيمة للبيروكسيد. تم استعمال المستخلصات الثلاث بنسبة 0.04 % والتي أعطت نتائج ايجابية, لا يظهر فرق معنوي في اليومين الأولين من الخزن بين المستخلصات الثلاث و مضادي الأكسدة الصناعيين فضلاً على معاملة المقارنة ولكن من بعد اليوم الرابع إلى نهاية مدة الخزن المختبرة يلاحظ وجود فروق معنوية $P<0.05$ جدول(1) وهذه النتائج توافق إلى ما توصل إليه [33]عند دراستهم الفلافونويدات كمواد مضادة للأكسدة كما قد تتفق مع ما وجده [34] من أن جميع الفلافونويدات المحتوية على تركيب الكاتيكول فـي الحلقة (B) تكو ن ذات جذور حرة أكثر استقرارية مقارنة بغيرها من الفلافونويدات . وكذلك تتفق مع ما أشار إليه [35] من أن الفلافونويدات الموجودة في بذور نبات *Spermaeoee hispids* تكون مضادات أكسدة قوية, وتتفق النتائج مع ما توصل إليه [36] الذي أشار إلى أن المركبات الفينولية في 12 نوعاً مختلفاً من العنب لها فعالية مضادة للأكسدة.

جدول (3): تأثير المعاملات المدروسة في قيمة البيروكسيد(ملي مكافيء/كغم) زيت زهرة الشمس قبل وفي أثناء الخزن على درجة حرارة(65) مْ لمدة 14 يوم .

المعاملة	الزمن (يوم)								*قيمة أ.ف.م (LSD)
	0	2	4	6	8	10	12	14	
المقارنة	1.6	4	8	16	24	17.6	12	11.2	* 2.07
BHT	1.6	2.4	3.6	8	10	18	14	12	* 2.58
PG	1.6	2.8	3.2	8.8	11.6	20	14.8	4	* 2.37
BE	1.6	2.4	4	8.4	9.6	22	18	16	* 3.71
WE	1.6	3.6	4.4	8	10.4	19.2	18	16.4	* 3.88
WGE	1.6	3.6	3.8	9.2	10.8	19.6	16	14.2	* 3.16
قيمة أ.ف.م (LSD)	NS	NS	2.85 *	3.52 *	3.84 *	2.74 *	3.09 *	2.86 *	---

*** ($p<0.05$) ، ns: غير معنوي**

المقارنة: انموذج الزيت غير مضاف له مضاد أكسدة

BHT: انموذج الزيت مضاف له مضاد الأكسدة BHT

PG: انموذج الزيت مضاف له مضاد الأكسدة PG

BE: انموذج الزيت مضاف له مستخلص بذور العنب الشدة السوداء

WE: انموذج الزيت مضاف له مستخلص بذور العنب الشدة البيضاء // WGE: انموذج الزيت مضاف له مستخلص مخلفات عصير العنب

المصادر

1. Pokorny, J. (1991). Natural antioxidants for food use. Trends Food Sci. Technology. 223-227.
2. Aviram, M. (2004). Flavonoids-rich nutrients with potent antioxidant activity prevent atherosclerosis development: The licorice example. Int. Congr. Ser. 1262:320–327.
3. Sudheesh, S. and Vijayalakshmi, N.R. (2005). Flavonoids from punica granatum-potenial antiperoxidative agents. Fitoterapia. 76:181-186.

4. Sweedy, M.E., Hamid, N.A. and Moselhy, M.E. (2007).The role of a mixture of green tea, turmeric and chitosan in the treatment of obesity –related testicular disorders. Apple. Biomed. 5:131-138.
5. Kurth, E.F. and Chan, F.L. (1951). Dihyroquercetin as antioxidant. JAOCS. 28:433-436.
6. Simpson,T.H. and Uri, N. (1956). Hydroxyflavones as inhibitors of the aerobic oxidation of unsaturated fatty acids. Chem. Industry. 956-957.
7. Teissedre, P.L., Frankel , E.N.,Water house , A. L., Pelg, H. and German, J.B. (1996). Inhibition of in vitro Human LDL oxidation by phenolic Antioxidant from Grapes and wines. Sci. Food. AGRIC. 70:55-61.
8. Somova, L.O., Nadar, A., Rammanan, P. and Shode, F.O. (2003). Cardiovascular, antihyperlipidemic and antioxidant effects of oleanolic and ursolic acids in experimental hypertension. Phytomedicine. 10:115–121,
9. Vivancos, M . and Moreno, J. J. (2005). β-Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. Free Radic. Biol. Med. 39:91–97.
10. A.O.A.C. (1980). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Washington, U.S.A.
11. Clifford, A.J., Ebeler, S.E., Ebeler, J.D., Bills, N.D., Hinrichs, S.H., Teissedre, P.L. and Waterhouse, A.L. (1996). Delayed tumor onset in transgenic mice fed an amino acid-based diet supplemented with red wine solids. Am J Clin Nutr. 64:748–756.
12. Miller, A.L. (1996). Antioxidant Flavonoids:Structure, Function and Clinical Usage. Alt. Med. Rev. 1(2):103-111.
13. Mitscher, L. (1997). Strongest of all antioxidants found in green tea.
14. Korver, O. (1997). Tea components and cancer prevention. In:Food and cancer prevention. (Eds., Ohigashi, H., Dsawa, T., Terao, J., Watanabe, S. and Toshikawa,T. Spring – Verlang,Tokyo. PP.:109-112.
15. Teissedre, P.L., Frankel, E.N.,Water house, A. L., Pelg, H. and German, J.B. (1996). Inhibition of in vitro Human LDL oxidation by phenolic Antioxidant from Grapes and wines. Sci. Food. AGRIC. 70:55-61.
16. Pastrana–Bonilla, E., Akoh, C.C., Sellappan, S. and Krewer, G. (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. J. Agric. Food Chem. 51:5497–5503.
17. Morre, D.M . and Morre, D.J. (2005). Anticancer activity of grape and grape skin extracts alone and combined with green tea infusions. Cancer Lett. 238:202–209.
18. Damianaki, A., Bakogeorgou, E., Kampa, M., Notas, G., Hatzoglou, A., Panagiotou, S., Gemetzi, C., Kouroumalis, E., Martin, P.M. and Castanas, E. (2000). Potent inhibitory action of red wine polyphenols on human breast cancer cells. J Cell Biochem. 78:429–441.
19. Faustino, R.S., Sobrattee, S., Edel, A.L and Pierce, G.N. (2003). Comparative analysis of the phenolic content of selected Chilean, Canadian and American Merlot red wines. Mol Cell Biochem. 249:11–19.
20. Nifli, A.P., Kampa ,M., Alexaki,V.I., Notas, G. and Castanas, E . (2005). Polyphenol interaction with the T47D human breast cancer cell line. J. Dairy Res. 72:44–50.
21. Soleas, G.J., Grass, L., Josephy, P.D., Goldberg, D.M. and Diamandis, E.P. (2002). A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. Clin Biochem. ,35:119–124.
22. Brich, A.J., J.W. Clark and A.V . Robertson. (1957). The relative and absolute configuration of catechins and epicatechin. Chem.Soc.,p.3586.
23. Hergert , H.L. and E.T. Kurth. (1953). The isolation and properties of catecol from white fir bark. Org. Chem. p.521.
24. Taga, M.S., Miller, E.E. and Pratt, D.E.(1984). Chia seeds as asource of natural antioxidant. Am Oil Chem. Soc. 61:928-931.
25. Scott, G. (1965). Atmospheric oxidation and antioxidants. Elsevier Publishing. New York.
26. A.O.A.C. (1980). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Washington, U.S.A.
27. SAS. (2004). SAS / STAT Users Guide for Personal Computers. Release 7.0. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA. (SAS = Statistical Analysis System).
28. Vivancos, M. and Moreno, J.J. (2005). β-Sitosterol modulates antioxidant enzyme response in RAW 264.7 macrophages. Free Radic. Biol. Med. 39:91–97.
29. الفضلي، عباس وشيل سلوان. (2000). تحضير وتشخيص معقدات المشتق N-استيل-D2-تربتوفان مع أملاح بعض العناصر الفلزية رسالة ماجستير - كلية التربية / ابن الهيثم / جامعة بغداد .
30. روضان، وفاء فيصل (2002). تحضير ودراسة تفاعلات مركبات حلقية غير متجانسة مشتقة من (1، 2-ترايازينوا 5 ، 6-b] اندول –3-ثايون). رسالة ماجستير - كلية العلوم /الجامعة المستنصرية.

31. Lee, K.W., Kim, Y.J., Lee, H.J. and Lee, C.Y. (2003). "Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine". Agric. Food Chem. 51 (25): 7292–5.
32. Nifli, A.P, Kamp, M.,Alexaki,V.I., Notas, G. and Castanas, E. (2005). Polyphenol interaction with the T47D human breast cancer cell line. J. Dairy Res.72:44–50.
33. ovanovic, S.V., Steenken, S., Tosic, M., Marjanovic, B. and Simic, M. (1994). Flavonoids as antioxidants. Am.Chem.Soc. 116:4846-4851.
34. Bors ,W., Michal ,C. and Stettmaier, K. (1997). Antioxidant Effects of Flavonoids. Mini-review, ISO press, Neuherberg, Germany.
35. Kuppusamy, K., Panneerselvam, K. and Viswanathan, P. (2008). Antioxidant efficacy of flavonoid-rich fraction from Spermacoce *hispida in hyperlipidemic- rats*. J. Appl. Biomed. 6(1214- 0287): 165–176.
36. Mayer ,U., Treutter, Santos-Buelga, C., Bauer, H. and Feught, W. (1995). Developmental changes in the phenol concentration of "Golden Delicious" apple fruits and leaves. Phytochemistry. 38(5):1151-115.