Studying the effects of locally used methods of preparing unripe grape juice on its total phenolic content and its antioxidant activity

Dr. Zeinab Sarem[*]
Marah Mohammad[**]

(Received 12 / 2 / 2024. Accepted 15 / 5 / 2024)

□ ABSTRACT □

Vegetables, fruits and their products are considered as protective foods against cardiovascular diseases (CVDs). They may reduce metabolic disorders which increase the incidence of these diet - related diseases. They contain many bioactive components like phenolic compounds, which are natural antioxidants. In this study, in Syria highly consumed unripe grape juice was selected as a phenolic compounds- rich food. This research aims to study the effect of the preparing method of unripe grape juice on its levels of phenolic compounds and its antioxidant activity. Fresh unripe grape juice (*Vitis vinifera* L.) was prepared and heat-treated either by exposing it to sunlight for 30 days (unboiled unripe grape juice) or boiling it for 60 minutes (boiled unripe grape juice). Then the resulting juice was stored at room temperature for a year. Total phenolic content in the unripe grape juice prepared by previously mentioned methods was determined using Folin-Ciocalteau method, and the antioxidant activity of this juice was compared using the Reducing Power method. Additionally, the total phenolic content and the antioxidant activity of the stored juice for one year were measured and compared at three-month intervals. The results showed a positive correlation between the total phenolic content of unripe grape juice (either boiled or unboiled) and its antioxidant activity. However, the newly prepared boiled unripe grape juice showed the highest content of phenolic compounds (13.0086 ± 0.1124 g_{GAE}\L) and the highest reducing power than unboiled unripe grape juice (11.2729 ± 0.1925 g_{GAE}\L). Despite the statistically significant decrease in both total phenolic content and antioxidant activity of one year stored unripe grape juice prepared by boiling or not, boiled juice showed the highest phenolic content (10.4887 ± 0.1631 g_{GAE}\L) and the highest antioxidant activity than unboiled juice (6.2455 ± 0.2207 g_{GAE}\L).

Keywords: Unripe grape juice, antioxidants, total phenolic content, reducing power.

Copyright **:**Tishreen University journal-Syria, The authors retain the copyright under a CC BY-NC-SA 04

[*] **Assistant Professor, Faculty of pharmacy, Tishreen University, Syria.**
[**] **Postgraduate Student, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Syria.**

دراسة تأثير طرائق تحضير عصير الحصرم المتّبعة محلياً على محتواه من المركّبات الفينولية وفعاليّته المضادّة للأكسدة

د. زينب صارم*

مرح محمد **

(تاريخ الإيداع 12 / 2 / 2024. قبل للنشر في 15 / 5 / 2024)

□ ملخّص □

تُعَدّ الخضار والفواكه ومنتجاتها من الأطعمة التي قد تقي من الأمراض القلبية الوعائية، وتقلّل من الاضطرابات الاستقلابية المهيئة لحدوثها، حيث تحتوي على العديد من المكوّنات الفعّالة حيوياً كالمركّبات الفينولية ذات الفعالية المضادّة للأكسدة. تمّ في هذا البحث التّركيز على عصير الحصرم كونه من الأغذية الغنية بالمركبات الفينولية، وكونه من العصائر شائعة الاستهلاك في سورية وذلك بهدف دراسة تأثير طريقة تحضيره على محتواه من المركّبات الفينولية وفعاليتهِ المضادة للأكسدة. تم تحضير عصير ثمار الحصرم الطازج *Vitis vinifera* L. ثم تخزينه في درجة حرارة الغرفة لمدة عام بعد معالجته حرارياً إما بتعريضه لأشعّة الشّمس لمدة (30) يوماً (عصير الحصرم غير المغلي) أو بعد تسخينه لمدة (60) دقيقة منذ بدء الغليان (عصير الحصرم المغلي). حُدّدت مستويات المركبات الفينولية في عصير الحصرم المحضّر بالطريقتين السابقتين بطريقة الفولين–سيوكالتو، وقُورنت فعاليّته المضادة للأكسدة بطريقة القدرة الإرجاعية خلال فترة التخزين وذلك خلال فواصل زمنيّة من ثلاثة أشهر.

أدى تسخين عصير الحصرم الطازج لمدة (60) دقيقة بعد الغليان إلى زيادة محتواه من المركبات الفينولية (13.0086 ± 0.1124 $g_{GAE}\backslash L$) وزيادة فعاليته المضادة للأكسدة مقارنةً بعصير الحصرم الطازج (11.2729 ± 0.1925 $g_{GAE}\backslash L$) بفارق مهم إحصائياً، وعلى الرغم من الانخفاض المهم إحصائياً في كمية الفينولات والفعاليّة المضادّة للأكسدة لعينات عصير الحصرم المحضر بالطريقتين السابقتين خلال عامٍ من التّخزين، بقي عصير الحصرم المغلي الأعلى محتوى من المركبات الفينولية (10.4887 ± 0.1631 $g_{GAE}\backslash L$) والأعلى قدرة إرجاعيّة من عصير الحصرم غير المغلي (6.2455 ± 0.2207 $g_{GAE}\backslash L$). أظهرت هذه الدّراسة وجود علاقة ارتباط طرديّة بين محتوى عصير الحصرم (سواء المغلي أو غير المغلي) من المركبات الفينولية وبين فعاليته المضادة للأكسدة.

الكلماتُ المفتاحيّة: عصير الحصرم، مضادّات الأكسدة، المحتوى الكلي من المركبات الفينولية، القدرة الإرجاعيّة.

حقوق النشر :مجلة جامعة تشرين– سورية، يحتفظ المؤلفون بحقوق النشر بموجب الترخيص CC BY-NC-SA 04

* **مدرّس ، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.**

** **طالبة ماجستير، كلية الصيدلة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.**

مقدّمة:

تُعَدُّ الأمراض المتعلقة بالتّغذية وفي مقدمتها الأمراض القلبية الوعائية يليها السرطان ثم الأمراض التنفسية المزمنة ثم الداء السكري من المسببات الرئيسة للوفاة حول العالم، حيث بلغ احتمال وفاة شخص واحد بعمر الثلاثين نتيجة الإصابة بواحد من الأمراض الأربعة السابقة المتعلقة بالتغذية قبل عمر السبعين نسبة 17.8%، وهذه النسبة كانت الأعلى في منطقة شرق المتوسط حيث بلغت 24.5% وفي الجمهورية العربية السورية 22.1%، وتحدث هذه الأمراض نتيجةً لاجتماع عوامل عدّة وراثية وفيزيولوجية وبيئية وسلوكية. تتضمن عوامل خطر حدوث هذه الأمراض وجود اضطرابات استقلابية كارتفاع ضغط الدم وزيادة الوزن والبدانة وارتفاع غلوكوز الدم وارتفاع شحوم الدم، أو سلوكية كالإفراط في تناول الكحول والتدخين وانخفاض النشاط البدني واتباع النظام الغذائي غير الصحي [1].

تُعدّ الشدة التأكسدية التي تخرّب بنية الحموض النووية والبروتينات والدسم من الأسباب التي تؤدي إلى الاضطرابات الاستقلابية مما يساهم في حدوث الأمراض العصبية والقلبية الوعائية والسرطانات والمتلازمة الاستقلابية وغيرها [2].

تحدث الشدة التأكسدية نتيجةً لاختلال التوازن التّأكسدي بين العوامل المؤكسِدة ومضادات الأكسدة، حيث يزداد إنتاج الجذور الحرة مثل أصناف الأوكسيجين التفاعلي (Reactive oxygen species) ROS والنتروجين التفاعلي RNS (Reactive nitrogen species) كناتج ثانوي طبيعي عن التفاعلات الاستقلابية. تجدرُ الإشارة إلى أنّه قد لا تكفي مضادّات الأكسدة داخلية المنشأ والمتوافرة طبيعيّاً في الجسم مثل إنزيمات الكاتالاز وسوبر أوكسيد ديسموتاز وغلوتاتيون بيروكسيداز وغيرها للتحكم بإنتاج هذه الجذور والتقليل من أضرارها، مما يبرِز أهمية تناول مضادات الأكسدة من مصدر خارجي كالفيتامينات والمركبات الفينولية التي توجد في الخضار والفواكه لدعم النشاط المضاد للأكسدة في الجسم [2].

أثبتت الدّراسات ارتباط حدوث معظم الأمراض المرتبطة بالتغذية بالابتعاد عن تناول الأغذية الصحية الغنية بالفواكه والخضار والحبوب الكاملة والمكسرات وزيادة استهلاك الأغذية المصنّعة عالية المحتوى من الدسم المشبعة والدسم المحوّلة والصوديوم والسكروز [3]، بينما أظهرت الدّراسات الوبائية أن الأطعمة النباتية والمحتوية على البولي فينولات ذات الفعالية المضادّة للأكسدة قد تقي من الأمراض القلبية الوعائية، وتقلل من الاضطرابات الاستقلابية المهيئة لحدوثها كزيادة محيط الخصر، وارتفاع مستويات الغلوكوز الصيامي وانخفاض مستويات الكوليستيرول عالي الكثافة بالبروتين الدهني (High density lipoprotein cholesterol) HDL-C [4].

يُعدُّ العنب من الفواكه الغنيّة بمركبات فعالة حيوياً كالمركبات الفينولية ذات الفعاليّة المضادة للأكسدة، فهو غني بحمض الغاليك وحمض الكافئيك وحمض الكافتاريك والكاتشينات والإيبي كاتشينات والأنتوسيانيدات والكيرسيتين [5].

يحتل الإنتاج الزّراعي لعنب المائدة *Vitis vinifera* L. المرتبة الثانية بين المحاصيل التي تتمّ زراعتها في العالم بعد الزيتون، كما كان إنتاج الوطن العربي من العنب 4% من الإنتاج العالمي عام 2004، بينما تُنتج سورية 10% من إنتاج الوطن العربي من العنب، حيث احتل إنتاجها المرتبة الثّانية عربياً بعد مصر والمرتبة الثامنة والعشرين عالمياً [6]. تتركّز زراعة العنب في ريف دمشق وحمص وحماة وحلب، ويتم تناوله كثمار مباشرةً أو بعد عصرها أو تحويلها إلى زبيب ومربيات وعصير مكثّف ونبيذ [6]، ورغم انخفاض الإنتاج الكلي من العنب في سورية من 337000 طن عام 2011 حتى 260000 طن عام 2016 حسب إحصائيات (FAO, 2018) [7]، إلا أنّه مازال من الفاكهة الأساسية المستخدمة في التغذية بكافة أشكاله. يُذكرُ من بين منتجات العنب التي يكثر استخدامها في منطقتنا عصير

الحصرم، الذي يتمّ الحصول عليه من خلال تطبيق الضغط الميكانيكي على ثمار العنب غير النّاضج (الحصرم) ثم ترشيح الناتج، للحصول على العصير ذي اللون الأخضر الفاتح والطعم الحامض، والذي يستخدم في إكساب الطعام الطعم الحامض كبديل عن عصير الليمون والخل [8]، إمّا بشكله الطازج [9] أو بعد معالجته حرارياً ليكتسب اللون الأحمر الآجري [8]. ينتشر تناول عصير الحصرم في منطقة المتوسط (سورية ولبنان وتركيا وإيطاليا وإيران)، ويُقطف في شهري تموز وآب في بداية الصيف وبعد 45 يوماً من الإزهار قبل بدء النضج تماماً لتجنب زيادة تركيز السكر وانخفاض محتوى الأحماض العضوية بما فيها البولي فينولات المعروفة كمضادات أكسدة مفيدة للجسم [5].

تأتي أهميّة هذا البحث من ارتفاع معدّلات الوفيات الناتجة عن الأمراض المتعلقة بالتغذية، والتي تتدخّل الشدة التأكسدية في آليات حدوثها، وباعتبار أن عصير الحصرم من الأغذية الغنية بالمركبات الفينولية، وهو شائع الاستخدام في سورية ويُعالج حرارياً بطرائق مختلفة، يهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير طريقة المعالجة الحرارية المتبعة محلياً أثناء تحضير عصير الحصرم في محتواه من المركبات الفينولية وفعاليته المضادة للأكسدة، وتحديد طريقة التّحضير المثلى المرتبطة بالفعالية الأعلى المضادة للأكسدة.

طرائق البحث ومواده

❖ المواد والتجهيزات المستخدمة:

استُخدِمَت في الدراسة مجموعة من المواد المذكورة في الجدول (1)، كما استُخدِمت مجموعة من التجهيزات المتوافرة في مخابر كلية الصيدلة في جامعة تشرين والمُوضّحة في الجدول (2).

الجدول (1) يُظهِر المواد المستخدمة في الدراسة

المادة	الشركة
كاشف فولين– دينيس	Sigma Aldrich, Switzerland
كربونات الصوديوم اللامائية	BDH, England
حمض الغاليك	Biotech LTD, India
فري سيانيد البوتاسيوم	May & Baker LTD, England
ثلاثي كلورو حمض الخل	Riedel-De Haen AG, Germany
كلوريد الحديد اللامائي	Qualikems, India
فوسفات أحادية البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين	Merck, Germany
فوسفات ثنائية البوتاسيوم أحادية الهيدروجين	Riedel-De Haen AG, Germany
ماء أحادي التقطير مقطر حديثاً	-

الجدول (2) يُظهِر التجهيزات المستخدمة في الدراسة

الجهاز	الطراز
جهاز تقطير الماء (أحادي التقطير)	RUNYES MEDICAL INSTRUMENT
حمام مائي	MODEL WB10L 2016
ميزان ذو حساسية 0.0001 g±	RADWAG, AS 220/C/2
ميكروبيبيت (100–1000 µl)	DRAGON LAB
مقياس الطيف المرئي	PHYLO For Technology UV-920

❖ **المحاليل المستخدمة في الدراسة التحليلية:**

المحاليل المستخدمة في تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية:

- محلول كاشف Folin–Denis الممدد بالماء المقطر (أحادي التقطير) بنسبة 1:1
- محلول كربونات الصوديوم اللامائية (w\v) 2%
- سلسلة محاليل عيارية من حمض الغاليك

المحاليل المستخدمة في مقارنة الفعالية المضادة للأكسدة وفق طريقة القدرة الإرجاعية Reducing Power Assay:

- محلول كاشف فيري سيانيد البوتاسيوم (w\v) 1%
- محلول ثلاثي كلورو حمض الخل Trichloroacetic acid (TCA) (w\v) 10%
- محلول كلوريد الحديد اللامائي (w\v) 0.1%
- محلول مُنظّم الفوسفات (pH 6.6, 0.2 M)

طريقة العمل المخبرية:

1. تحضير عصير الحصرم:

تضمنت عينات الدراسة ثمار الحصرم *Vitis vinifera* L. المتوافر في سورية، حيث قُطفت عناقيد العنب غير الناضج (الحصرم) قبل النضج وذلك في بداية شهر آب عام 2022 من ريف محافظة طرطوس– القدموس من نوع واحد من الكرمة (كتلة العناقيد = 5.795 كغ)، ثم تم عزل أية ثمارٍ مصابة، وغُسِلت باستخدام مياه الصنبور ثم تُركت لتجف في الهواء الطلق، تمت بعد ذلك إزالة الذيل الحامل للحبات، ثم تمّ عصر ثمار الحصرم باستخدام فرامة كهربائية بدون تكسير البذور، ثم ضُغطت يدوياً باستخدام مصفاة ستانلس ستيل، وجُمِع العصير الناتج في وعاء ستانلس ستيل، وأُضيفَ الملح الصخري بمقدار (30 غ) لكل كيلوغرام واحد من العصير، ثم قسم العصير الناتج إلى قسمين، حيث تم تحليل محتوى القسم الأول من المركبات الفينولية وقياس فعاليته المضادة للأكسدة، حيث مثّل هذا القسم عينة العصير غير المغلي الذي تم تخزينه بعد تعريضه لأشعة الشمس مدة (30 يوماً) على شرفة المنزل (حتى اكتساب اللون المرغوب المائل للأحمر)، ثم حفظه في خزانة المطبخ في درجة حرارة الغرفة حتى وقت التحليل الآتي.

تم تسخين القسم الثاني لمدة (60 دقيقة) مند بدء الغليان على غاز منزلي، وهو الزمن اللازم للوصول إلى اللون والطعم الحامض المطلوب لعصير الحصرم، ثم ملؤه في قوارير زجاجية محكمة الإغلاق وخزنت مباشرة في خزانة المطبخ في درجة حرارة الغرفة لتمثل عينة العصير المغلي.

تحضير عينات عصير الحصرم لإجراء الاختبارات الكيميائية:

تم تحديد المحتوى الكلي للفينولات ومقارنة الفعالية المضادة للأكسدة لكلا العصيرين المغلي وغير المغلي عند بدء التحضير (شهر آب عام 2022)، وتكرار هذه الاختبارات كل ثلاثة أشهر لمدّة عام (شهر تشرين الثاني عام 2022– شهر شباط عام 2023– شهر أيار عام 2023– شهر آب عام 2023).

تحديد المحتوى الكلي لعصير الحصرم من المركبات الفينولية:

تم تحديد المحتوى الكلي من الفينولات في عصير الحصرم حسب طريقة Folin–Ciocalteu [10]، حيث تم تحضير ثلاثة سلاسل من محاليل عيارية لحمض الغاليك وفق التراكيز التالية (0.1 – 0.2 – 0.4 – 0.5 – 0.6 g/L) انطلاقاً من محلول أم بتركيز (5 g/L).

أضيف (2 ml) من محلول كربونات الصوديوم 2% إلى (0.1 ml) من كل محلول من محاليل السلسلة العيارية المحضّرة من حمض الغاليك وإلى (0.1 ml) من محاليل عصير الحصرم غير المغلي والمغلي بعد تمديدها بالماء أحادي التقطير بنسبة (v\v) 3%، ثم تم مزج المحاليل وتركت لمدة (5) دقائق في خلايا (Cuvette)، وأُضيف إلى كل مزيج (0.1 ml) من كاشف Folin Denis الممدّد باستخدام الماء أحادي التقطير بنسبة (1:1)، وتُرِك المزيج مدة (30) دقيقة في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة، وتمت بعدها قراءة امتصاصية المحلول الأزرق الناتج في المجال المرئي عند طول موجة (750 nm) باستخدام جهاز سبيكتروفوتومتر وذلك بعد التصفير على محلول البلانك.

تم تحضير المحلول الفارغ blank من خلال اتباع الخطوات السابقة نفسها ولكن باستخدام (0.1 ml) من الماء أحادي التقطير عوضاً عن (0.1 ml) من محلول عصير الحصرم.

تم قياس الامتصاصية الناتجة عن كل تركيز لكل من محاليل السلسلة العيارية ثلاث مرات، وتم حساب المتوسط الحسابي للامتصاصية لكل تركيز من تراكيز المحاليل المدروسة، ورسم الخط البياني الممثل لتغير الامتصاصية بدلالة التركيز والذي يظهر في الشكل (1). ثم تم قياس امتصاصيّة كل محلول من محاليل عصير الحصرم المدروسة، وتم التعبير عن كمية المركبات الفينولية بعدد غرامات حمض الغاليك المكافئة للمركبات الفينولية التي توجد في ليتر واحد من عصير الحصرم المدروس (g_{GAE}\L) (Gallic Acid Equivalent). كُرّرت التجربة ثلاث مرات حيث تم حساب المتوسط الحسابي لكمية المركبات الفينولية التي توجد في عصير الحصرم المدروس والتعبير عن النتائج بالمتوسط الحسابي للمكررات الثلاثة ± الانحراف المعياري.

مقارنة الفعالية المضادة للأكسدة لعينات عصير الحصرم وفق طريقة القدرة الإرجاعية:

جرت مقارنة الفعالية المضادة للأكسدة لعصير الحصرم بطريقة القدرة الإرجاعيّة [11]، وذلك باستخدام كاشف فري سيانيد البوتاسيوم.

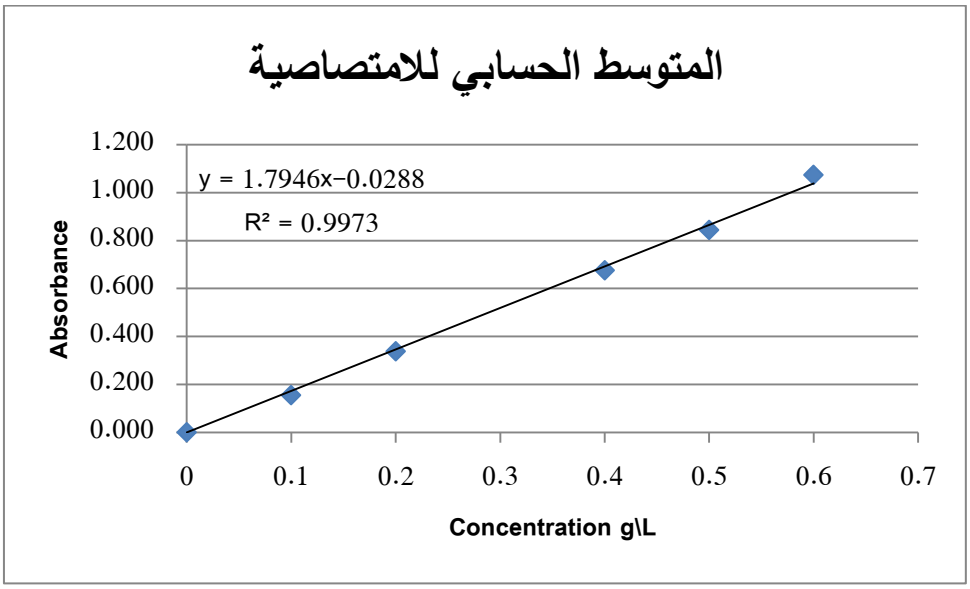
يؤدّي وجود المركبات الفينولية في عصير الحُصرم إلى إرجاع أيونات الحديد في معقد Fe^{3+}/ferricyanide إلى أيونات الحديدي في معقد Fe^{2+}/ferricyanide، ثم تتفاعل أيونات الحديدي الناتجة مع أيونات الحديد الثلاثي في محلول $FeCl_3$، ويتم تحديد امتصاصية المحلول الناتج بمقياس الطيف المرئي عند طول موجة (700 nm).

طُبّق هذا الاختبار على عينات عصير الحصرم الممددة بنسبة (v\v) 0.5%، من خلال مزج (0.5 ml) من محلول العينة بعد تمديدها مع (0.5 ml) من محلول مُنظم الفوسفات (pH 6.6, 0.2 M)، وإضافة (0.5 ml) من محلول فري سيانيد البوتاسيوم (1%)، ليُحضَن المزيج السّابق في حمّام مائي بدرجة حرارة (50 ºC) مدّة (20) دقيقة، ثمّ

يُضاف إليه (0.5 ml) من محلول ثلاثي كلورو حمض الخل Trichloroacetic acid (TCA) (10%)، ويُمزَج جيّداً.

يُؤخَذ (1 ml) من المزيج ذي اللون الأصفر ويُضافُ له (1 ml) من الماء أحادي التقطير و(0.2 ml) من محلول كلوريد الحديد اللاماني (0.1%)، وتُقرأ امتصاصيّة المحلول الأخضر الناتج عند طول موجة (700 nm) باستخدام جهاز سبيكتروفوتومتر، يتم تحضير محلول الـ Blank وفق الخطوات السّابقة نفسها، ولكن يتم استخدام (0.5 ml) من الوقاء الفوسفاتي بدلاً من (0.5 ml) من محلول العينة.

تم قياس الامتصاصية الناتجة عن كل محلول من المحاليل المدروسة، وكُرّرت التجربة ثلاث مرات ثم حُسِب المتوسط الحسابي للامتصاصية لكل محلول من المحاليل المدروسة، حيث تم التعبير عن القدرة الإرجاعية بالمتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري.



شكل (1): الامتصاصية الناتجة عن سلسلة حمض الغاليك العيارية المستخدمة في حساب المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في محاليل عصير الحصرم

❖ التحليل الإحصائي:

تم استخدام البرنامج الإحصائي SPSS V.26 (Statistical Package for the Social Sciences, Version 26.0) لمعالجة نتائج الدراسة وتم تطبيق اختبار ستيودينت T-student للتّحقق من وجود فرق إحصائي مهم فيما يتعلق بالمركبات الفينولية في عصير الحصرم وفعاليته المضادة للأكسدة، مع الأخذ بالحسبان أن القيم الاحتمالية الأقل من 0.05 (P-value < 0.05) قيمٌ ذات دلالة إحصائية، والأكبر من 0.05 تشير إلى عدم وجود فرق إحصائي.

النتائج والمناقشة:

❖ **نتائج تحديد المحتوى الكلي من المركبات الفينولية باستخدام طريقة الفولين سيوكالتو Folin– Ciocalteu:**

تمّ حساب المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في محاليل عصير الحصرم المُحضّر بالاستناد إلى المعادلة الخطية لسلسلة حمض الغاليك العيارية الموضحة في الشكل (1) والمحضرة بتراكيز (0.1 – 0.6 g\L) حيث كانت المعادلة خطية (y=1.7946x– 0.0288)، وكانت قيمة معامل التحديد R^2 تساوي 0.9973.

يُظهر الجدول (1) متوسط المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في عصير الحصرم المخزن لمدة عام بعد تعريضه للغلي أو لأشعة الشمس وذلك خلال فواصل زمنية من ثلاثة أشهر. بلغ متوسّط كميّة الفينولات في عصير الحصرم الطازج (11.2729 ± 0.1925 g_{GAE}\L) لينخفض هذا المحتوى بعد تعريض العصير المذكور لأشعة الشمس لمدة شهر ثم حفظه في خزانة المطبخ (في الظلام وفي درجة حرارة الغرفة) لمدة عام إلى (6.2455 ± 0.2207 g_{GAE}\L) وبفارق مهم إحصائياً عما كان عليه. أدى تعريض عصير الحصرم للتسخين لمدة 60 دقيقة بعد الغليان إلى زيادة مهمة إحصائياً في محتواه الفينولي (13.0086 ± 0.1124 g_{GAE}\L) مقارنة بالعصير الطازج غير المغلي (11.2729 ± 0.1925 g_{GAE}\L)، على الرغم من انخفاض محتوى عصير الحصرم المُحضر بالغلي لمدة 60 دقيقة من المركبات الفينولية عند تخزينه لمدة عام إلى (10.4887 ± 0.1631 g_{GAE}\L) وبفارق مهم إحصائياً عما كان عليه بعد تحضيره مباشرةً، إلا أنّ محتواه من المركبات الفينولية بقي أعلى بفرق مهم إحصائياً مقارنة بالعصير غير المغلي والمعرض لأشعة الشمس والمخزن لمدة عام (6.2455 ± 0.2207 g_{GAE}\L). تجدر الإشارة إلى أن المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في عصير الحصرم المغلي كان أعلى منه في عصير الحصرم غير المغلي وبفارق مهم إحصائياً، وذلك خلال جميع الفواصل الزمنية التي أجري فيها الاختبار (عند بدء التحضير في شهر آب عام 2022 ثم في شهر تشرين الثاني عام 2022 ثم في شهر شباط عام 2023 ثم في شهر أيار عام 2023 وأخيراً في شهر آب عام 2023). تتفق نتائج هذا البحث المتعلقة بازدياد المحتوى الفينولي في عصير الحصرم عند تعرُّضه للغلي مع دراسة الباحثة Eddine وزملائها، حيث ازداد المحتوى الفينولي في عينات العصير المغلي لمدة 30 دقيقة بنسبة 56% و50% و37% للأنواع تفيفيحي (عنب أحمر) وبيتموني (عنب أبيض) والأسود (عنب أحمر) على التوالي مقارنة بالعصير الطازج المحضر من هذه الأنواع، إلا أن هذا الازدياد كان أعلى من نتيجة دراستنا، حيث ازداد المحتوى الفينولي لعصير الحصرم بعد الغلي لمدة 60 دقيقة بنسبة 15.4%، كما بيّنت الباحثة أيضاً ارتباط هذا الازدياد بالنوع المدروس، حيث أظهر النوع عبيدي (عنب أبيض) انخفاضاً غير مهم إحصائياً بمقدار 4% مقارنة بالعصير الطازج [5]. أظهر الباحث El–kaderi وزملاؤه تغير سويات المركبات الفينولية في عصير الحصرم (1189.2 mg_{GAE}\L) عند تعرضه للمعالجة الحرارية لمدة ساعة لتبلغ (1595.5 mg_{GAE}\L) دون وجود فرق مهم إحصائياً، كما ازداد المحتوى الفينولي لعينات عصير الحصرم باستمرار المعالجة الحرارية حتى بلغ قيمة أعظميّة عند 4 ساعات ثم انخفض بعد 5 ساعات [8]. تعود أسباب الزيادة في المحتوى الفينولي للعصير بعد الغلي إلى عوامل عدة مثل تبخّر الماء أو تحرر المركبات البولي فينولية من المواد الصلبة المتبقية من ثفل العنب والمعلقة في العصير خلال المعالجة الحرارية [5]، لابد من الإشارة إلى أنه من الصّعب التنبؤ بتأثير المعالجة الحرارية على المنتجات التي تحتوي على المركبات الفينولية بسبب اختلاف سلوك هذه المركبات خلال التسخين، فقد ينخفض تركيز الكاتشينات في عصير العنب المعالج حرارياً نتيجة تحطمها وتأكسدها، وفي المقابل فإن البروأنتوسيانيدات والتانينات المتكاثفة تكون أقل تركيزاً

في عصير العنب الطازج ولكنها تزداد في عصير العنب المسخّن بسبب الأكسدة التي تؤدي إلى بلمرة البولي فينولات المفردة [12]، اختلفت كمية المركبات الفينولية في عصير الحصرم المحضر وفق هذه الدراسة والمستخدم في الدراسات الأُخرى وهذا يعود إلى عوامل عدة مثل اختلاف ظروف النمو واختلاف النوع الوراثي للعنب ووقت جني الثمار، بالإضافة إلى الاختلاف في وقت الاعتيان من العصير، واختلاف الطّرائق المتبعة في التحليل [5,13]، وقد لَحظ أنه لا توجد دراسة راقبت كمية الفينولات الكلية في عصير الحصرم غير المغلي والمغلي خلال عام من التخزين.

جدول (1): متوسط المحتوى الكلي من المركبات الفينولية في عصير الحصرم المُحضّر مقدّراً بـ (g_{GAE}\L) خلال عام من التخزين

زمن التحليل	المتوسط الحسابي لكمية المركبات الفينولية (g_{GAE}\L) Mean ± SD	
	عصير الحصرم غير المغلي n=3	عصير الحصرم المغلي n=3
آب 2022	11.2729 ± 0.1925	13.0086 ± 0.1124
تشرين الثاني 2022	7.7273 ± 0.1177	12.6103 ± 0.1477
شباط 2023	6.9389 ± 0.1396	11.3328 ± 0.1176
أيار 2023	6.6232 ± 0.1452	10.7054 ± 0.1115
آب 2023	6.2455 ± 0.2207	10.4887 ± 0.1631

❖ نتائج تحديد الفعالية المضادة للأكسدة بطريقة القدرة الإرجاعية:

تم التّعبير عن الفعالية المضادة للأكسدة بامتصاصيّة المحلول المدروس لطول موجة (700 nm)، حيث أن زيادة الامتصاصية تشير إلى زيادة القدرة الإرجاعية المضادة للأكسدة [14]. يُظهر الجدول (2) نتائج الفعالية المضادة للأكسدة لمحاليل عصير الحصرم المُحضّر معبراً عنها بقيم امتصاصية المحلول المدروس لطول موجة (700 nm)، حيث بلغت امتصاصية محلول عصير الحصرم عند بدء التحضير (0.0059 ± 0.556)، وهي أقل من الامتصاصية التي أظهرها محلول عصير الحصرم المغلي لمدة 60 دقيقة (0.0131 ± 0.635) وبفارق مهم إحصائياً، كما انخفضت الفعالية المضادة للأكسدة لمحاليل عصير الحصرم المدروسة المغلية وغير المغلية معبراً عنها بالامتصاصية خلال فترة التخزين لتصبح بعد عام (0.0042 ± 0.528) و(0.0088 ± 0.294) على التوالي وكان هذا الانخفاض مهماً إحصائياً، لتبقى القدرة الإرجاعية لعصير الحصرم المغلي أعلى من القدرة الإرجاعية للعصير غير المغلي وذلك في جميع الفترات التي أُجري فيها التحليل. تتفق نتيجة هذه الدراسة مع دراسة Eddine *et al.*, (2020)، حيث ازدادت الفعالية المضادّة للأكسدة المقاسة بطريقة كنس جذور بيروكسيد الهدروجين لكل من عصير الحصرم من نوع تفيفيحي وبيتموني من 68% حتى 91% خلال المعالجة الحرارية لمدة 30 دقيقة، وقد تم تفسير ذلك بتأثير المعالجة الحرارية على تحسين أكسدة البولي فينولات لحالة تأكسديّة وسيطة ذات فعالية كانسة للجذور الحرة أعلى من البولي فينولات غير المؤكسَدَة [5]، وقد أشارت هذه الدّراسة إلى أن ازدياد الفعالية المضادة للأكسدة تحت تأثير المعالجة الحرارية يتعلق بنوع الحصرم المستخدم؛ إذ لم تتغير الفعالية المضادة للأكسدة تغيراً مهماً إحصائياً لكل من عصير الحصرم من نوع عبيدي وأسود بعد المعالجة الحراريّة [5]، كما اتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة أجراها

الباحث (El-kaderi *et al.*, 2020) في لبنان تم فيها قياس الفعالية المضادة للأكسدة لعصير الحصرم بطريقة كنس جذور بيروكسيد الهدروجين أيضاً، حيث تبيّن أن العصير الطازج يكنس الجذور الحرة بنسبة 67.91%، حيث ازدادت هذه النّسبة تحت تأثير المعالجة الحرارية لمدة 60 دقيقة فقط من 67.91% إلى 69.99%، كما بلغت قيمة أعظمية 77.3% عند زيادة مدة غلي العصير حتى 3 ساعات ثم بدأت بالانخفاض باستمرار التسخين حتى وصلت لأدنى نسبة 53.61% بعد 5 ساعات [8]، وبصورة متناقضة مع نتائج هذا البحث، أكّدت دراسة الباحثتين الدياب وناصر المجراة على عصائر الرمان والبرتقال والتوت أن المعالجة الحرارية لمدة 20 دقيقة في الدرجة 80ºC تؤدي إلى انخفاض الفعالية المضادّة للأكسدة المقاسة بطريقة القدرة المضادة للأكسدة والمرجِعة لأيونات Ferric Ferric) FRAP Reducing Antioxidant Power) للعصائر المدروسة بنسبة 12.72% و21.25% و6.8% على التّوالي، وذلك نظراً لأن الحرارة العالية تزيد من نشاط أنزيم PPO (Polyphenol oxidase) المؤكسِد للمركبات الفينولية والتي تلعب دوراً مضاداً للأكسدة في هذه العصائر [15]، قد تُعزى أسباب الاختلاف بين نتائج هذه الدراسة والدّراسات المرجعية الأُخرى إلى اختلاف الطّرائق المتبعة لتحديد الفعالية المضادة للأكسدة لعصير الحصرم، وتنوع المناخ ونوع التربة وزمن القطاف وشروط التخزين وظروف المخبر [13].

جدول (2): نتائج الفعالية المضادة للأكسدة لمحاليل عصير الحصرم المُحضّر معبّر عنها بقيم الامتصاصية خلال عام من التخزين

زمن التحليل	الامتصاصية Mean ± SD	
	عصير الحصرم غير المغلي n=3	عصير الحصرم المغلي n=3
آب 2022	0.556 ± 0.0059	0.635 ± 0.0131
تشرين الثاني 2022	0.348 ± 0.0081	0.596 ± 0.0085
شباط 2023	0.326 ± 0.0089	0.568 ± 0.0096
أيار 2023	0.316 ± 0.0057	0.545 ± 0.0056
آب 2023	0.294 ± 0.0088	0.528 ± 0.0042

ربطت الدّراسات السّابقة بين تركيز المركبات الفينولية في المنتجات النباتيّة وفعاليتها المضادة للأكسدة، حيث ازدادت الفعالية المضادة للأكسدة مُمثّلة بالقدرة الإرجاعية لعصائر الفواكه كالتوت الأسود والبرتقال والعنب الأسود بزيادة محتواها الكلي من الفينولات [14]، كما أظهرت دراسة الباحثة Shojaee-Aliabadi وزملائها أن الفعالية المضادة للأكسدة مقاسة بطريقة كنس جذور DPPH (2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) الحرّة DPPH% في ثفل الحصرم مرتبطة بمحتواه الكلي من الفينولات [16]. أظهرت نتائج هذه الدراسة أيضاً وجود علاقة ارتباط طرديّة بين المحتوى الفينولي لعصير الحصرم (سواء المغلي أو غير المغلي) وبين فعاليته المضادة للأكسدة مُمَثّلة بالقدرة الإرجاعية، حيث كانت قيمة معامل الارتباط (0.794) وكانت القيمة الاحتمالية (*P* -value) أصغر من مستوى الدلالة (0.01).

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات:

- تبيّن من خلال نتائج هذه الدراسة أن الطّريقة المتّبعة لتحضير عصير الحصرم تؤثر في كميّة بعض مكوناته الحيوية كالمركبات الفينولية، حيث كان العصير المحضّر بالغلي لمدة (60) دقيقة ذي تركيز أعلى من المركّبات الفينولية مقارنة بالعصير غير المغلي.
- تبين أن للعصير المغلي فعاليّة مضادة للأكسدة ممثلة بالقدرة الإرجاعيّة أعلى من العصير غير المغلي حتى بعد تخزين كلّ منهما لمدة عام، حيث ازدادت الفعالية المضادّة للأكسدة بزيادة المحتوى الفينولي في العصير.
- يمكن القول أنّ عصير الحصرم المغلي هو الأفضل من حيث المكونات المدروسة.

التوصيات:

- يمكن أن يوصى بتحضير عصير الحصرم بالمعالجة الحرارية لمدّة ساعة بهدف الاستفادة من خواصّه المضادة للأكسدة في تقليل الشدة التأكسديّة وبالتّالي الوقاية من الأمراض المرتبطة بالتغذية وتقليل معدّلات الوفيات المتعلقة بهذه الأمراض.
- يوصى بمتابعة الدّراسة على عصير الحصرم المحضر من أنواع مختلفة من العنب وذلك بهدف اختيار النوع ذي المحتوى الأعلى من المركبات الفينولية وذي الفعالية الأعلى المضادّة للأكسدة.

Reference

1. World health statistics 2023: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals. Geneva: World Health Organization; 2023. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
2. de Araújo RF, Martins DB, Borba MA. Oxidative stress and disease. InA master regulator of oxidative stress-the transcription factor nrf2 2016 Dec 21. IntechOpen.
3. Bowen KJ, Sullivan VK, Kris-Etherton PM, Petersen KS. Nutrition and cardiovascular disease—an update. Current atherosclerosis reports. 2018 Feb;20:1-1.
4. Zujko ME, Waśkiewicz A, Witkowska AM, Cicha-Mikołajczyk A, Zujko K, Drygas W. Dietary Total Antioxidant Capacity—A New Indicator of Healthy Diet Quality in Cardiovascular Diseases: A Polish Cross-Sectional Study. Nutrients. 2022 Aug 6;14(15):3219.
5. Salah Eddine N, Tlais S, Alkhatib A, Hamdan R. Effect of four grape varieties on the physicochemical and sensory properties of unripe grape verjuice. International Journal of Food Science. 2020 Jul 13;2020.
6. Bayram M, Gök Y. The effects of the War on the Syrian Agricultural Food Industry Potential. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 2020 Jul 30;8(7):1448-62.
7. Bayram M, Gök Y. The effects of the War on the Syrian Agricultural Food Industry Potential. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology. 2020 Jul 30;8(7):1448-62.
8. El-kaderi B, Tlais S, Alkhatib A, Hamdan R. Effect of thermal processing time on the physicochemical and sensory properties of Lebanese Tfayfiha verjuice variety. International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology. 2020;5(3).

9. Nikfardjam MS. General and polyphenolic composition of unripe grape juice (verjus/verjuice) from various producers. Mitteulingen Klosterneuburg. 2008 Jul 30;58:28-31.

10. Al Diab D, Hasan N, Nezam A. استخدام طريقة تثبيط تمسخ الألبومين في تحديد الفعالية المضادة للالتهاب للمركبات الفينولية في بعض عصائر الفواكه المتوفرة محلياً. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 2021 Mar 9;43(1).

11. Sarem Z, Alssowa R. دراسة تأثير كل من نوع الزيت النباتي وشركته المنتجة ومزجه مع الزيوت الأخرى على فعاليته المضادة للأكسدة وتغيراتها مع الزمن. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 2021 Jul 6;43(3).

12. Piva A, Di Mattia C, Neri L, Dimitri G, Chiarini M, Sacchetti G. Heat-induced chemical, physical and functional changes during grape must cooking. Food Chemistry. 2008 Feb 1;106(3):1057-65.

13. Shakir BK, Rashid RM. Physiochemical and phytochemical profile of unripe black grape juice (verjuice). Annals of Tropical Medicine and Public Health. 2019;22(12):1-4.

14. ديمة الدياب، نور الأسعد. تحديد سويات المركبات الفينولية وفعاليتها المضادة للأكسدة في بعض العصائر الوظيفية المحلِّيَّة. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 2015;37(1).

15. ديمة الدياب، سندس ناصر. دراسة بعض العوامل المؤثرة على سويات المركبات الفينولية وفعاليتها المضادة للأكسدة في بعض العصائر الوظيفية. Tishreen University Journal-Medical Sciences Series. 2018 Nov 18;40(5).

16. Shojaee-Aliabadi S, Hosseini SM, Tiwari B, Hashemi M, Fadavi G, Khaksar R. Polyphenols content and antioxidant activity of G hure (unripe grape) marc extract: Influence of extraction time, temperature and solvent type. International Journal of Food Science & Technology. 2013 Feb;48(2):412-8.