

تشخيص وتقدير الفينولات الكلية وبعض مركباتها في بذور بعض أصناف العنب

Vitis vinifera L. باستخدام الكروماتوغراف السائل عالي الأداء⁺

IDENTIFICATION AND DETERMINATION OF TOTAL HENOL AND SOME COMPONENTS OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE SEEDS OF SOME GRAPE VARIETIES (*VITIS VINIFERA* L.) BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

فاروق فرج جمعه^{**}

زينب صباح المالكي^{**}

مهدي ضمد القيسي^{*}

المستخلص:

تم استخلاص وتقدير الفينولات الكلية وبعض مركباتها باستخدام تقنية الكروماتوغراف السائل عالي الأداء *Vitis vinifera* L. المزروعة في العراق وهي شدة سوداء وروسي^٧ وكمالي وبهرزي وديس العنز وحلواني ورش ميو خلال موسمين من الزراعة. بينت النتائج احتواء بذور أصناف العنب المذكورة أعلاه على معدل فينولات كلية بتركيز (٢١٠٢٠,٦٤ و ٢٩٤٨٢,٦٠) و (١٨٥٤٠,٧٦ و ٢٧٢٨٦,٩٨) و (١٨٠٨٣,٧٩ و ٢٣١٣٠,٦٠) و (١٦٢٥٦,١٣ و ٢١٥٥٥,١٣) و (١٣٨١٦,٣٥ و ١٨٥٥٧,٥٤) و (١٣٤٣٥,٧٥ و ١٧٩٣٥,٨٣) و (١٢٠٩٩,٥٢ و ١٧١٣٧,٣٣) ملغم/كغم لموسمي الزراعة على التوالي. كما وتباين محتوى بذور الأصناف قيد الدراسة من البروانثوسياندين والكاتيكين والأبي كاتيكين، فقد تميز صنف شدة سوداء بمحتواه العالي من هذه المركبات الثلاثة بالمقارنة مع الأصناف الباقية، بينما بلغ اقل تركيز من البروانثوسياندين والكاتيكين في الصنف رش ميو، أما اقل تركيز للأبي كاتيكين فقد وجد في صنف حلواني.

Abstract:

Total phenolic compounds of seven grape varieties (*Vitis vinifera* L.) of Shadda Soudda, Rossi 7, Kamali, Buhrizi, Dase Al-Anz, Halawani and Rush Meo were determined through two seasons. The results indicated that the seeds of tested varieties contain total phenol in concentration (21020.64 and 29482.60), (18540.76 and 27286.98), (18083.76 and 23130.60), (16256.13 and 21555.13), (13816.35 and 18557.54), (13435.75 and 17935.83) and (12099.52 and 17137.33) mg/kg for the tow seasons, respectively. The seeds of varieties were variable in phenolic content, the Sadda Soudda have the higher content of these compounds in comper with others. Meanwhile, Rush Meo have the lowest Proanthocyanidin and Catechin content, and the lowest content of Epicatechin was found in Halawani.

⁺ تاريخ استلام البحث ٢٥/٤/٢٠٠٧، تاريخ قبول النشر ١٧/١/٢٠٠٨

^{*} رئيس باحثين /وزارة الزراعة

^{**} مدرس كلية الزراعة، جامعة السليمانية

^{***} استاذ مساعد/ كلية الزراعة / جامعة بغداد

جزء من أطروحة دكتوراه للباحث الثاني.

المقدمة:

أثبتت العديد من الدراسات أن الغذاء الذي يتضمن نسبة عالية من الفاكهة والخضر يحمي الإنسان من الإصابة بالأمراض التي تسبب نسبة وفيات عالية مثل السرطان وأمراض القلب [١]. أن هذه الحقيقة أدت إلى اهتمام عالمي واسع للتعرف على مكونات الغذاء في المصادر النباتية المسؤولة عن التأثيرات المفيدة لصحة الإنسان. حيث أظهرت الدراسات أن لبعض النباتات فعلاً فسلجياً ودوائياً واسعاً فقد استعملت في علاج الكثير من الأمراض الشائعة ومنها مرض السكر وضغط الدم ولها القابلية على قتل أو تثبيط نمو الكثير من الأحياء المجهرية المرضية التي تصيب الإنسان والحيوان وهي أمينة الاستعمال والآثار الجانبية التي تحدثها أقل ضرراً مقارنة مع العقاقير المخلفة صناعياً [٢] و [٣].

وقد تم تحديد العديد من المركبات الفعالة في الأغذية النباتية ومن بينها المركبات الفينولية وغير الفينولية والذي يهمننا في هذه الدراسة هي المركبات الفينولية، أن أبسط الفينولات هي التي تحوي على حلقة فنيل واحدة مثل الكومارين Coumarin بينما تحوي المركبات المتعددة الفينول Polyphenols على أكثر من حلقة فنيل واحدة مثل Flavanol و Anthocyanin و Isoflavanol والجزيئات الأكبر منها تشير إلى التانينات [١]. أن للمركبات الفينولية انتشار واسع في المملكة النباتية كنواتج ثانوية لعملية التركيب الضوئي، وتعد الفاكهة واحدة من أغنى المصادر لهذه المركبات، فضلاً عن كون هذه المركبات مصدراً غذائياً فإن لها تأثيرات فسيولوجية عديدة مثل كونها مضادة للأكسدة antioxidant ومضادة لتخثر الدم Anticoagulant [٤] و [٥] و [6]. كما أنها تقلل من نسبة الكوليسترول في الدم ومحفزة لمناعة الجسم ومضادة للأمراض الفطرية والبكتيرية والفيروسية ولعلاج ارتفاع ضغط الدم [٤]، ومثبطة لفعالية بعض الأنزيمات الفسيولوجية وتأثيراتها مثل أنزيمات Lipoxigenase و Phospholipase A² و Cyclooxygenase ويعمل كذلك كمضاد للالتهابات Anti inflammatory [٧]، وتزيد من فعالية هرمون الاستروجين Estrogen [٨]، كما وجد بان لها دور في مقاومة النبات للعديد من الأمراض [٩].

أن للفينولات الموجودة في العنب تأثيرات بايولوجية كثيرة فمن المهم معرفة ليس فقط الفينول الكلي ولكن المركبات المنفصلة أيضاً، وبما أن الجزء الأكبر لفعاليات الفينولات يعتمد بشكل كبير على صيغتها التركيبية وجزئياً على درجة تعددها ولغرض الإحاطة بميكانيكيته الفسيولوجية، وتجهيز هذه المركبات يتطلب الأمر تثبيت فصل فعال وتجزئة لهذه المركبات اعتماداً على درجة تعددها.

ولكون العنب *Vitis vinifera* L احد الفاكهة المنتشرة زراعتها في العراق، ونظراً لوجود أصناف عديدة منه وعدم وجود دراسات مسبقة حول هذا الموضوع في العراق والوطن العربي حسب علمنا، لذا فقد ركزت الدراسة حول مجموعة من الأصناف البذرية لتقدير محتواها من الفينولات.

المواد وطرائق العمل:

تم اختيار بستان العنب العائد الى د. زهير العاملي الكائن في قرية البصام في ابي غريب/بغداد للحصول على نماذج التجربة للموسم ٢٠٠١ و ٢٠٠٢. شملت الدراسة سبعة أصناف بذرية وبألوان مختلفة وهي شدة سوداء ورش ميو اللون الأسود، أما بالنسبة للأصناف الحمراء فقد وقع الاختيار على الحلواني والكمالي، في حين اختير ديس العنز والبهري وروسي ٧ ليمثلوا الأصناف البيضاء.

جمعت عينات العنب بمقدار ٥ كغم من كل صنف قيد الدراسة كلاً على انفراد وبواقع ثلاثة مكررات لكل صنف وبصورة عشوائية من جميع أجزاء الكرمة لتمثل العينة الأنموذج بشكل صحيح وتمت عملية الجمع بثلاثة مواعيد:

الموعد الأول (I):- في مرحلة التحول veraison عند تلون ٥٠% من الحبات في العنقود.

الموعد الثاني (II):- في مرحلة النضج التام عند اكتمال تلون ونضج الحبات.

الموعد الثالث (III):- في مرحلة الزبيب أو الكشمش (النضج الاضافي).

نفذت التجارب المختبرية والتحليل كإففة في مختبرات منظمة الطاقة الذرية العراقية الملغاة خلال الفترة من ٢٠٠١-٢٠٠٣. بعد فصل البذور عن اللب لكل نموذج من النماذج قيد الدراسة كلاً على انفراد تم غسلها بالماء الجاري ثم جففت بالفرن الكهربائي ذي تيار الهواء المتداور على درجة حرارة ٣٠م لحين الجفاف. قسمت البذور المجففة إلى قسمين الأول جرى طحنه بطاحونة قهوة كهربائية وللحصول على مسحوق متجانس تم إمراره على منخل سعة فتحاته ٠,٠١٦ مايكرون (Mesh)، حفظ المسحوق في قناني زجاجية معتمة في الثلاجة لحين الاستعمال، أما القسم الثاني من البذور غير المطحونة فقد وضعت في قناني زجاجية معتمة وخزنت في الثلاجة لحين الاستعمال.

تم استخلاص مركبات الفينولات في نماذج البذور الكاملة والمطحونة حسب الطريقة التي وصفها [10]، فقد استعمل ١٠غم من مسحوق البذور المجفف كل على انفراد، وأضيف لها ٣٠مل من الايثانول المطلق (Absolute Ethanol) وترك الأنموذج في المجمدة لمدة ٢٤ ساعة على حرارة -١٨م، فصل الراسب عن الراشح وأضيف إلى الراسب ٣٠مل ميثانول تركيز ٨٠% وترك لمدة ٤ ساعات في درجة حرارة الغرفة، بعدها جمع الراشح ثم أضيف إلى الراسب ٣٠ مل ميثانول تركيز ٥٠% وترك لمدة ٤ ساعات في درجة حرارة الغرفة، بعد ذلك استخلص الراسب بـ ٣٠مل من الماء المقطر، وأخيراً استخلص بـ ٣٠ مل من الأسيتون تركيز ٧٥% وترك لمدة ساعتين في درجة حرارة الغرفة وكررت هذه الخطوة مرتين. بعدها جمعت المستخلصات المتتالية ورشحت بورق ترشيح واتمان رقم ١، وجرى تقدير الفينولات الكلية في المستخلص النهائي بطريقة فولن وكما وصفها [١١] وذلك باستعمال كاشف فولن Folin cioulate reagent بجهاز المطياف الضوئي وعلى طول موجي ٦٥٠ نانوميتر. تم تركيز المستخلص الكلي باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary Evaporator نوع Büchi RE 121 تحت الضغط المخزل على درجة حرارة ٣٠م للتخلص من المذيبات العضوية، وتم إضافة ماء معاد التقطير Redistilled water للمستخلص المركز ليصل بمقدار حجمه الابتدائي قبل التبخير.

جرى تقدير كمي للبروانثوسياندين (Proanthocyanidin) والكاتيكين (Chatechin) والأبي كاتيكين (Epicatechin) في مستخلص البذور باستعمال جهاز الكروماتوغراف السائل عالي الأداء High Performance Liquid Chromatography (HPLC) نوع Cecil 1100 الفرنسي الصنع لفصل المركبات وفق ما ذكره [١٢] باستخدام عمود فصل من نوع Shimpack C-18 BDS (٢٥٠ ملم × ٤,٦ ملم) والطور المتحرك (Mobile phase) هو بيوتانول: حامض الخليك: ماء والنسب (٣٧٤:١:١١) ح/ح، وبمعدل سرعة جريان (Flow rate) ١,٥ مل/دقيقة. ودرجة حرارة ٣٠م، واستخدم كاشف U.V. Detector عند طول موجي ٢٨٠ نانوميتر. تم حقن ٥ مايكروليتر من النموذج في الجهاز وقورن زمن ظهور المركب (Retention time) مع زمن ظهور المركب القياسي. تم إجراء التحليل الإحصائي لدراسة محتوى بذور بعض أصناف العنب من المركبات الفينولية وملاحظة الاختلافات بين الأصناف وفق التصميم العشوائي التام التعشبية (CRD) وباستعمال اقل فرق معنوي (LSD) least significant difference عند مستوى احتمالية ٠,٠٥ باستخدام البرنامج الإحصائي SAS لتحليل البيانات [١٣].

النتائج والمناقشة:

أظهرت نتائج الدراسة تفاوت بذور الأصناف في محتواها من الفينول الكلي وبفروق معنوية واضحة، إذ يبين جدول (١) تفوق الصنف شدة سوداء لكلا موسمي التجربة يليه صنف روسي ٧ ثم الكمالي يتبعه ديس العنز. أما أقل القيم فكانت لبذور صنف رش ميو الذي اظهر فرقا معنويا عن صنف الحلواني الذي يسبقه. كما بينت نتائج التحليل الإحصائي لمواعيد الجني انخفاضا تدريجيا ومعنويا في محتوى الفينول الكلي بزيادة عمر العنقود إذ سجلت أقل معدل في الموعد الثالث (١١٤٧١,٠١ و ١٦٧٤٤,٦٧) مقارنة بأعلى معدل في الموعد الأول (٢٠٢١٥,٧٦ و ٢٦٤٩٤,٠٧) ملغم/كغم لموسمي التجربة على التوالي.

كذلك يشير الجدول إلى أن البذور غير المطحونة (البذور كاملة) أعطت كمية فينول كلي أعلى من البذور المطحونة، حيث ان عملية الطحن تؤدي الى اكسدة المركبات الفينولية وتحويلها الى مركبات اخرى. وهذا يتفق مع ما توصل اليه [٦] من ان تركيز البروانثوسياندين في مستخلص البذور الكاملة غير المطحونة اعلى من تركيزها في البذور المطحونة. وان تركيز المركبات الفينولية للموسم الثاني حوالي مرة ونصف أكثر من تركيزها في الموسم الأول لجميع الأصناف تقريبا قيد الدراسة. وقد أوضحت النتائج أن الصنف يمتلك التأثير الأكبر في اختلاف تركيز الفينولات، وهذا قد يعود إلى العوامل الجينية التي تتحكم في هذه الاختلافات. ويبدو من النتائج انه لا يوجد تأثير للون قشرة الصنف بالمحتوى الفينولي في بذور الصنف نفسه وان للصنف والعوامل الوراثية دور في تركيز المركبات الفينولية في بذور العنب وهذا يتفق مع ما ذكره [٤] و [١٤].

نلاحظ من جدول (٢) أن محتوى الأصناف من البروانثوسياندين كان مشابها لمحتواها من الفينول الكلي فقد أعطى الصنف شدة سوداء كمية بروانثوسياندين في البذور غير المطحونة والمطحونة على التوالي كمعدل لأعلى القيم (٧٤٥٠,٥٩ و ١٢١٠٦,٤٥) ملغم/كغم يليها روسي ٧ (٥٠٩٣,٣٤ و ٩٩٨٨,٨١) ملغم/كغم ثم الكمالي (٢٧٩٨,٢٦ و ٥١١٨,٧١). أما ديس العنز فق أعطى (٢٤٩١,٣٣ و ٤٧٨٨,٨٧) ملغم/كغم. أما أقل القيم فكانت للحلواني يتبعه رش ميو (١٤٣٢,٠٩ و ٢٢٥٤,٤٩) و (٨٩٠,٢٠ و ١٧٨٠,٩٨) ملغم/كغم لموسمي التجربة على التوالي. وهذه النتائج تؤكد مرة أخرى احتواء البذور غير المطحونة على أكثر من ستة أضعاف كمية البروانثوسياندين في البذور المطحونة تقريبا ولجميع الأصناف قيد الدراسة ولموسمي التجربة. وكذلك الحال فان الموعد الأول لجني كافة الأصناف أعطى أعلى التراكيز للبروانثوسياندين (٤٨١٢,١٦ و ٨٢٤٤,٨٥) وبفارق معنوي عن المواعدين الآخرين للجني (٣٩٢٠,٩٠ و ٧٠١١,٣٨) و (٧٧٠,٤٥ و ١٨٠١,١٤) ملغم/كغم والتي كان الموعد الثالث أقل محتوى، ونلاحظ من هذا الجدول أن نتائج الموسم الثاني كانت تحوي على ضعف التركيز تقريبا قياسا بالسنة الأولى.

أن سبب انخفاض تركيز البروانثوسياندين ربما يعود إلى أن عملية طحن البذور يمكن أن تقصر من زمن الاستخلاص ولكنها لا تزيد من كمية البروانثوسياندين والتي تتفق مع ما توصل إليه [٦] و [١٥]. وعلى الرغم من ذلك فان عملية الطحن تسبب زيادة معنوية في استخلاص المركبات غير المرغوب فيها والشوائب التي تعيق أو تمنع من الحصول على البروانثوسياندين النقي، لهذا السبب في كل التجارب التي أجريت في هذا البحث استعملنا البذور كاملة من دون طحن، وان استخلاص بذور العنب الجافة بواسطة خلاط الاثليل أظهرت بان هذا المذيب غير قادر على استخلاص البروانثوسياندين، وقد لوحظ أن وجود الماء يزيد النفاذية للمذيب داخل أنسجة البذور لذلك تصبح أكثر قابلية على الانتقال من خلال الانتشار الجزيئي وان أفضل نسبة هي ١٠% والزيادة الأكثر تؤدي إلى إذابة مركبات أخرى غير مرغوب فيها لكون الماء مذيباً عضوياً قوياً. اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه [١٠] من أن تركيز البروانثوسياندين في مستخلص البذور الكاملة غير المطحونة أعلى من تركيزها في البذور المطحونة.

جدول (3) يبين أن ترتيب الأصناف وفق محتواها من الكاتكين كما يأتي: شدة سوداء (3251,73 و 4620,67) وديس العنز (1567,84 و 2253,32) وروسي (1203,59 و 1712,44) وبهرزي (899,87 و 1086,67) وكمالي (529,98 و 739,51) وحلواني (494,74 و 713,94) ورش ميو (351,65 و 529,18) ملغم/كغم معدل الصنف من الكاتكين في البذور غير المطحونة والمطحونة لموسمي الدراسة على التوالي. كما يبدو من الجدول (3) أن البذور غير المطحونة تحوي على عشرة أضعاف كمية الكاتكين في البذور المطحونة. كذلك فإن محتوى الكاتكين في الموعد الأول أعلى بنسبة 23,90% و 20,19% عن الموعد الثاني والذي بدوره أعلى بنسبة 57,75% و 54,29% عن الموعد الثالث. أما معدل النسبة المئوية للزيادة في محتوى الكاتكين في الموسم الثاني قياساً بالموسم الأول فكانت كما يأتي: شدة سوداء 24,09% وديس العنز 43,72% وروسي 24,28% وبهرزي 20,76% وكمالي 39,54% وحلواني 44,43% ورش ميو 50,48%. وتشير الزيادة في تركيز الكاتكين في الموسم الثاني قياساً بالموسم الأول إلى أهمية الموسم في البناء الحيوي للمركبات الفينولية المتعددة (Polyphenols) من ناحية ومحتواها في الأعناب من ناحية أخرى [16].

أن تركيز الأبي كاتكين لأصناف العنب قيد الدراسة موضحة في جدول (4) والذي يبين أن صنف شدة سوداء يمثل أعلى المعدلات مما جعله يتفوق معنوياً على الأصناف كافة بزيادة تقدر بـ 972,23% و 942,42% لموسمي التجربة مقارنة بصنف الحلواني الذي كان يملك أقل معدل بينها على الرغم من أن صنف الكمالي ورش ميو أعطيا قيماً قليلة لكنهما أعطيا زيادة عن الحلواني بنسبة 53% و 41,64% للموسم الأول و 50,36% و 37,43% للموسم الثاني، أما أصناف ديس العنز وروسي وبهرزي فأعطت ثاني أعلى قيمة بعد شدة سوداء الذي يزيد عنهم بفرق معنوي يقدر بـ 303,89% و 423,40% و 571,37% للموسم الأول و 295,26% و 411,63% و 573,64% للموسم الثاني على التوالي. كما يتضح من الجدول أن البذور غير المطحونة تحوي على (11) ضعفاً تقريباً مقارنة بالبذور المطحونة لموسمي التجربة.

أما بالنسبة لتأثير الموعد فقد وجد أن الموعد الأول يحوي على أعلى القيم أما أقل القيم فقد تم ملاحظتها في الموعد الثالث. أن سبب احتواء الموعد الأول على أعلى القيم وأقلها في الموعد الثالث ربما يعود إلى أن هذا المركب فضلاً عن بقية المركبات حساس جداً لارتفاع درجات الحرارة إذ تؤدي الحرارة العالية إلى تكسر الأواصر وتغيير الصيغة التركيبية للمركب. لذا تكون قيم الموعد الأول أعلى من بقية المواعيد لأن درجات الحرارة معتدلة في هذا الموعد وتبدأ درجات الحرارة بالارتفاع في الموعد الثاني وتزداد أكثر في الموعد الثالث لذلك تكون حصة المركبات الفينولية أقل في المواعيد الأخيرين. واتفقت هذه النتائج مع نتائج [4] واللذين أشارا إلى أن المركبات الفينولية ومن ضمنها الأبي كاتكين تتأثر بشكل كبير بالصنف الذي له علاقة بالعوامل الوراثية.

يستدل من نتائج هذه الدراسة وجود الفينولات الكلية والبروانثوسياندين والكاتكين والأبي كاتكين بأعلى كمية أو تركيز في مرحلة تلون الحبات ثم تنخفض إلى النصف تقريباً في مرحلة نضج الحبات ويستمر الانخفاض في مرحلة الزبيب، وان عملية طحن البذور أثرت سلباً في كمية هذه المركبات عند تقديرها، يمكن اعتبار بذور العنب مصدر غني بالمركبات الفينولية وخصوصاً البروانثوسياندين، وان بذور صنف الشدة السوداء هو أكثر الأصناف احتواءً على المركبات الفينولية. ونوصي بدراسة بقية المركبات الفينولية وتشخيص أنواع البروسياندين B₁ و B₂ و B₃ و B₄ و A₁ و A₂ و C₁ و C₂ و C₃ ومركب الكامفيرول، وإجراء دراسات لتقدير محتوى بذور الأصناف الباقية من الفينولات الكلية ومكوناتها.

جدول (1) تركيز الفينولات الكلية (ملغم/كغم) في مستخلص بذور العنب لموسمي التجربة (تمثل القيم العليا نتائج الموسم الأول 2000-2001 والقيم الدنيا نتائج الموسم الثاني 2001-2002)

روسي ٧		بهرزي		ديس الغنز		حلواني		كمالي		رش ميو		شدة سواد		نوع البذرة	الموعد
٢٩٧٦٨,٦٦	c	٢٥٧٨٥,٧٩	e	٢١٣٨٨,٢٨	g	٢٠٧٧٥,١٥	i	٢٩٣٣٨,٦٩	d	١٩٦٨٣,٤٣	j	٣٤٨٩٧,١١	b	غير مطحونة	الأول
٤٠٥٢٩,٢٩	c	٣٣٦٤٨,١٨	e	٢٨٤٠٢,١٨	i	٢٨١٣٢,٢٠	i	٣٦١٢٨,٩١	d	٢٧٢٢٠,٢٧	j	٤٩١٥٧,٧٦	a		
٢٥٥٩٨,٨٥	ef	٢١٣١٣,٩٤	gh	١٨٠٢٧,٦٣	m	١٧٥٢٧,٩١	n	٢٥٣٦٢,٧١	f	١٦٩٢٦,٣١	o	٣٠٠٠٨,٩٥	c	مطحونة	الأول
٣٦٢٣٩,٩٤	d	٣٠٠٨٧,٠٧	h	٢٥٣٩٦,٢٦	k	٢٥١٥٦,١٧	k	٣٢٣٠٥,٢٥	g	٢٤٤٤١,٨١	l	٤٣٩٥٥,٢١	b		
١٤٤٦٧,١٥	qr	١٦٨٧٤,٣٧	o	١٣٩٦١,٠٨	st	١٢٦٢٩,٩٣	v	١٨٢٣١,٣٧	lm	١٤٣٦٥,٥٣	qr	٢٠٩٣٧,٦٧	hi	غير مطحونة	الثاني
٢١٠٥٨,٦٨	o	٢٤٠٢٣,٧٨	l	٢٠٢٤٤,٩٠	q	١٨٤٠١,٢٧	r	٢٢١٤٢,٤٥	n	٢٠٨٨١,٠٦	op	33049.43	f		
١٨٩١٧,٤٤	k	١٤٧٥٣,٤٤	q	١٢٦٦٧,٢٤	v	١٢٦٠٣,٩١	v	١٥٢٠٧,٨٢	p	٨٧١٦,٣٤	z	١٨٥١٧,٣٧	l	مطحونة	الثاني
٢٥٣٦٢,٥١	k	١٥٤٧٤,٩٢	u	١٧٧٨٠,٩٠	s	١٥٣٢٠,٩٦	u	٢٠٥٠٥,٧٥	pq	١٢٨٤٥,٤١	wx	٢٠٤٠٧,٦٦	pq		
١٣٨٨٣,٠٥	t	١١٦٨٢,٩٨	w	١٠٠٧٩,٩٨	y	١٠٦٣١,٧٦	x	١٣١٥١,٢٧	u	٧٤٠٥,١٩	١	١٤٣٠٢,٤٢	rs	غير مطحونة	الثالث
٢٢٧,٠٦,٧٣	m	١٣٧٠٦,٤٣	v	١٢٢٠٩,٠٧	y	١٣٠١٣,٧٤	w	١٧٢٥٤,٣٧	t	١٠٨٣٩,١١	z	١٧٨٦٢,٤٧	s		
٨٦٠٩,٣٨	z	٧١٢٦,٢٦	q	٦٧٧٣,٨٨	2	٦٤٤٥,٨٦	2	٧٢١٠,٨٩	l	٥٥٠٠,٣٢	٣	٧٤٦٠,٣٢	l	مطحونة	الثالث
١٧٨٢٤,٧٢	s	١٢٣٩٠,٣٩	xy	٧٣١١,٩٣	l	٧٥٩٠,٦٤	l	١٠٤٤٦,٨٦	z	٦٥٩٦,٢٩	٢	١٢٤٦٣,٠٥	xy		
الموعد															
٢٤٣٤٣,٠٥	c	٢٠٢٦٩,٦٢	e	١٧٠٢٧,٧٦	h	١٦٦٨٩,٥٣	l	٢٢٢٧٣,٢٦	d	١٢١٩٩,٨٩	j	٢٦٧٠٧,٢٤	b	الموعد الأول	
٣٢٩٤٥,٩٠	b	٢٤٥٦١,٥٥	f	٢٣٠٩١,٥٤	g	٢١٧٢٦,٥٨	h	٢٨٣١٧,٣٣	e	٢٠٠٣٢,٨٤	i	٣٤٧٨٢,٧١	a		
١٩٧٤٠,٩٥	f	١٦٤٩٨,٤٦	i	١٤٠٥٣,٨١	j	١٤٠٧٩,٨٣	j	19256.99	g	١٢١٦٥,٧٥	l	٢٢١٥٥,٦٩	d	الموعد الثاني	
٢٩٤٧٣,٣٤	d	٢١٨٩٦,٧٥	h	١٨٨٠٢,٦٧	k	١٩٠٨٤,٩٦	k	٢٤٧٧٩,٨١	f	١٧٦٤٠,٤٦	m	٣٠٩٠٨,٨٤	c		
١١٥٣٨,٢٧	m	٤٣٥٠٠,٣٢	a	١٠٣٦٧,٤٨	n	٩٥٣٧,٩٠	p	١٢٧٢١,١٣	k	٩٩٣٢,٩٢	o	١٤١٩٩,٠٠	j	الموعد الثالث	
١٩٤٤١,٧٠	j	١٨٢٠٧,٠٨	l	١٣٧٧٨,٤٢	o	١٢٩٩٥,٩٦	p	١٦٢٩٤,٦٥	n	١٣٧٣٨,٦٨	o	٢٢٧٥٦,٢٤	g		
نوع البذرة															
٢٣٢٧٨,٢٢	d	٢١٣٢٤,٧٠	e	١٧٧٩٢,٣٣	f	١٦٩٧٧,٦٦	g	٢٤٣١٠,٩٢	c	١٦٩٩١,٧٦	g	٢٨٦١٤,٥٨	b	غير مطحونة	
٣٢٦٠٩,٣٠	b	٢٩٢٥٣,٠١	d	٢٤٦٨١,١١	e	٢٣٨٩٦,٥٥	g	٣٠١٩٢,٢٠	c	٢٤١٨١,٠٥	f	٤٢٠٥٤,١٣	a		
١٣٨٠٣,٢٩	h	٣٢١٨٧,٥٦	a	٩٨٤٠,٣٧	k	٩٨٩٣,٨٤	k	١١٨٥٦,٦٦	j	٧٢٠٧,٢٨	l	١٣٤٢٦,٧٠	i	مطحونة	
٢١٩٦٤,٦٥	h	١٣٨٥٧,٢٥	k	١٢٤٣٣,٩٧	l	١١٩٧٥,١١	m	١٦٠٦٨,٩٩	j	١٠٠٩٣,٦٠	n	١٦٩١١,٠٦	i		
١٨٥٤٠,٧٦	c	٢٦٧٥٦,١٣	a	١٣٨١٦,٣٥	e	١٣٤٣٥,٧٥	f	١٨٠٨٣,٧٩	d	١٢٠٩٩,٥٢	g	٢١٠٢٠,٦٤	b	المعدل للصنف	
٢٧٢٨٦,٩٨	b	٢١٥٥٥,١٣	d	١٨٥٥٧,٥٤	e	١٧٩٣٥,٨٣	f	٢٣١٣٠,٦٠	c	١٧١٣٧,٣٣	g	٢٩٤٨٢,٦٠	a		

جدول (٢): تركيز البراوانثوسياندين (ملغم/كغم) في مستخلص بذور العنب ولموسمي التجربة (تمثل القيم العليا نتائج الموسم الأول ٢٠٠٠-٢٠٠١ والقيم الدنيا نتائج الموسم الثاني ٢٠٠١-٢٠٠٢)

الموعد		نوع البذرة		شدة سواد		رشن ميو		كمالي		حلواني		ديس العنز		بهرزي		روسي ٧	
الأول	غير مطحونة	a	٢٠١٩٦,٢٣	m	١٩١٨,٢٧	e	٧٩٤٤,٦٨	j	٣٨٨٩,٥٢	g	٥٩٥٨,٢٥	i	٤٦٨٢,٢٤	c	١٣٢٨٥,٢٦	c	٢٣٨٦٤,٨٢
	مطحونة	b	١٦٣٨٢,٢٩	n	١٤٩٨,٦٥	f	٦٤٦٩,١٦	k	٣٢١٤,١٢	h	٥٦٩٤,٩٨	j	٤٠٢٩,١٤	d	١٠٥٥١,٤٥	d	٢٠٣٤٧,١٩
الثاني	غير مطحونة	l	٢٦٢٣,١٠	vwx	٢١٧,٩٠	uv	٣٢٩,٦٣	t	٦٧٣,١٩	o	١٢٧٤,٦٦	qrs	٩١٣,٤٤	l	٢٦٢٩,٣٥	l	٥٧٩٠,٢٨
	مطحونة	j	٨٢٤٨,١٩	x	١٢١٧,٤٠	yz	٧٩٥,١٢	yz	٧٤٤,٩٣	r	٢٧٢٨,٩٨	vw	١٤٩٥,٧٣	l	٥٧٩٠,٢٨	l	٥٧٩٠,٢٨
الثالث	مطحونة	k	٣١٣٨,٢٧	qrs	٩٠٩,٤٩	op	١١٥٧,٦٣	uv	٣٢٦,٢١	qr	٩٦٧,٩٧	o	١١٧٥,١٧	m	١٨٣٠,٩٩	m	٤٤٤٤٧,٧٠
	غير مطحونة	o	٣٨٨٨,٨٧	uvw	١٥٢٤,٩٩	wx	١٣٩٢,٩٦	y	٩١٨,٧٤	tu	١٧٢٠,٢٣	t	١٧٩٣,٣٨	n	٤٤٤٤٧,٧٠	n	٤٤٤٤٧,٧٠
	مطحونة	m	١٩٣٦,٢٦	st	٧٣١,٤٢	rst	٧٧٥,٢٧	uvw	٢٦٨,٦٢	qrst	٨٣٦,٤٣	pq	٩٨٧,٥٤	n	١٥١٧,٣٤	n	١٥١٧,٣٤
	مطحونة	s	٢٤٣٦,٢٦	wx	١٣٣٧,٩١	y	٩٠٥,٢١	yz	٧٦٤,٩٤	wx	١٤٠٠,٨٨	wx	١٤١٨,٣٧	o	٣٨٠٩,٦٤	o	٣٨٠٩,٦٤
الموعد	مطحونة	u	٤٣٧,٣٧	x	٦٥,٤٧	wx	١١٣,١٧	vwx	٢٢٠,٨٥	vwx	٢١٥,٦٩	uv	٣٢٦,٨٩	st	٧٤٥,٦٢	st	٧٤٥,٦٢
	مطحونة	y	٨٤٤,٩٩	2	١٤٢,٤٠	2	١٩٧,٣١	2	٢٢٤,٦٨	l	٤٨٩,٣٣	z	٦٢٣,٤٧	tuv	١٦٧٣,٢١	tuv	١٦٧٣,٢١
الموعد																	
الموعد الأول	a	١١٦٦٢,٢٥	m	١٤١٣,٨٨	e	٤٥٥١,١٦	k	٢١٠٧,٨٧	g	٣٤٦٣,١١	i	٢٩٢٨,٧١	c	٧٥٥٨,١٣	c	٧٥٥٨,١٣	c
	a	١٧٣٠,٩١٧	n	٢٤٤٧,٨٧	e	٨١١٨,١٤	l	٣٣٠٦,٧٦	f	٦٨٤٧,٥١	h	٥٥٢٨,٢٢	c	١٤١٥٦,٢٦	c	١٤١٥٦,٢٦	c
الموعد الثاني	b	٩١٥٩,٢٨	n	١١١٥,٠٤	f	٣٦٢٢,٢٢	l	١٧٤١,٣٧	h	٣٢٦٥,٧١	j	٢٥٠٨,٣٤	d	٦٠٣٤,٤٠	d	٦٠٣٤,٤٠	d
	b	١٤٤٦٣,٦٠	o	٢٢١٥,١٨	f	٦٧٤١,٧٦	m	٢٩٧١,٩١	g	٥٩٠٦,٩٤	i	٤٧٠١,٨٨	d	١٢٠٧٨,٤١	d	١٢٠٧٨,٤١	d
الموعد الثالث	m	١٥٣٠,٢٤	r	١٤١,٦٩	r	٢٢١,٤٠	q	٤٤٧,٠٢	o	٧٤٥,١٧	p	٦٢٠,١٧	l	١٦٨٧,٤٩	l	١٦٨٧,٤٩	l
	j	٤٥٤٦,٥٩	r	٦٧٩,٩٠	s	٤٩٦,٢١	s	٤٨٤,٨١	p	١٦٠٩,١٦	q	١٠٥٩,٦٠	k	٣٧٣١,٧٤	k	٣٧٣١,٧٤	k
نوع البذرة																	
غير مطحونة	a	١٣٠٦٧,٢١	i	١٢١١,٦١	c	٤٩١٤,٤٩	f	٢٥٩٢,٢٨	d	٤٣٠٩,٣٠	e	٣٢٠٨,٢٧	b	٨٨٢٢,٠٢	b	٨٨٢٢,٠٢	b
	a	٢١٨٢٢,٨٧	h	٢٥٦٠,٢٠	c	٩٤٠٥,٥٩	f	٣٨٧٢,٨٦	d	٨٣٧٢,٢٥	e	٦٢٤٨,٠٦	b	١٦٦٦٧,٤٣	b	١٦٦٦٧,٤٣	b
مطحونة	g	١٨٣٣,٩٧	l	٥٦٨,٧٩	k	٦٨٢,٠٢	m	٢٧١,٨٩	k	٦٧٣,٣٦	j	٨٢٩,٨٧	h	١٣٦٤,٦٥	h	١٣٦٤,٦٥	h
	i	٢٣٩٠,٠٤	k	١٠٠١,٧٧	l	٨٣١,٨٣	m	٦٣٦,١٢	j	١٢٠٣,٤٨	j	١٢٧٨,٤١	g	٣٣١٠,١٨	g	٣٣١٠,١٨	g
المعدل للصنف	a	٧٤٥٠,٥٩	g	٨٩٠,٢٠	c	٢٧٩٨,٢٦	f	١٤٣٢,٠٩	d	٢٤٩١,٣٣	e	٢٠١٩,٠٧	b	٥٠٩٣,٣٤	b	٥٠٩٣,٣٤	b
	a	١٢١٠٦,٤٥	g	١٧٨٠,٩٨	c	٥١١٨,٧١	f	٢٢٥٤,٤٩	d	٤٧٨٧,٨٧	e	٣٧٦٣,٢٣	b	٩٩٨٨,٨١	b	٩٩٨٨,٨١	b

جدول (٣): تركيز الكاتيكين (ملغم/كغم) في مستخلص بذور العنب لموسمي التجربة (تمثل القيم العليا نتائج الموسم الأول ٢٠٠٠-٢٠٠١ والقيم الدنيا نتائج الموسم الثاني ٢٠٠١-٢٠٠٢)

الموعد		نوع البذرة		شدة سوداء		رش ميو		كمالي		حلواني		ديس العنز		بهرزي		روسي ٧	
الأول	غير مطحونة	a	٨٨٢٥,٦٩	m	٨٣٩,٢٤	i	١٤٩٣,٣٩	i	١٤٥٧,٢٩	c	٤٢٩١,٤٦	g	٢٨٤٩,٦٨	d	٣٧٩٤,١٨	d	٥٣٢١,٨٦
	مطحونة	b	٧٥٦٥,٧٢	n	٧٥٢,٦٩	j	١٢٣٢,٦٤	k	١١٣٠,٤٤	e	٣٥٢٤,٧٦	h	١٦٧٥,٩٩	f	٣٠٨٨,٧٧	f	٤٥٠٢,٥١
الثاني	غير مطحونة	k	١١٢٦,٨٤	w	٢٨,٦٠	rst	١٩٥,٧٤	rst	٢١١,٢١	l	٩٣٧,٥٣	vw	٥٥,١٢	rs	٢٢١,٧٣	u	٣١٧,٨٧
	مطحونة	l	١٦١٢,٨٥	xy	٩١,٩٢	u	٢٨٤,٩٢	u	٢٩٥,٨٤	n	١٣٦٢,٩١	yz	٧٥,٩٢	u	٣١٧,٨٧	u	٣١٧,٨٧
الثالث	غير مطحونة	m	٨٤٧,٥٦	rst	٢١٣,١٨	uvw	٨٨,٧٩	uvw	٦٣,٨٣	qr	٢٧٢,٢٣	p	٣٥٩,٣٥	vw	٤٩,٤٩	yzl	٥١,٦٥
	مطحونة	p	١١٨٩,٨٨	u	٢٩٦,٦٦	wx	١٢٤,٨٧	wx	٩٣,٩٩	t	٣٨٨,٨٩	s	٥٠٩,٧٥	yzl	٥١,٦٥	yzl	٥١,٦٥
الموعد	الموعد الأول	a	٤٩١٢,٣٤	k	٥٤٦,٩٦	h	٨١٠,٦٤	h	٧٧٠,٩٣	c	٢٣١٥,٣٢	e	١٦٤٧,١٤	d	١٩٢٥,٠٨	d	٢٦٩١,٩٠
	الموعد الثاني	b	٤٢٠٦,٦٤	l	٤٨٢,٩٣	i	٦٦٠,٧٢	i	١١١١,٨٠	c	٣٢٦٦,٠٣	g	١٧٦٧,٥٦	e	٢٦٩١,٩٠	e	٢٦٩١,٩٠
نوع البذرة	الموعد الثالث	l	٦٣٦,٢١	n	٢٥,٠٦	m	١١٨,٥٩	m	١١٦,١٠	l	٤٨٩,٧١	n	٣٤,٨١	m	١١٦,٥٧	m	١٦٨,٣٥
	غير مطحونة	j	٩١١,٣٦	p	٦٦,٨٦	o	١٧١,٤٣	o	١٦١,٦٠	m	٧٥٢,٧٣	p	٨٣,٤٩	o	١٦٨,٣٥	o	١٦٨,٣٥
المعدل للصنف	غير مطحونة	a	٥٨٣٩,٤٢	g	٥٤٠,١٨	e	٩٧٣,٩٢	e	٩٣٢,٩٨	b	٢٩١٧,٩٢	d	١٥٢٦,٩٣	c	٢٣٦٨,٢٣	c	٣٣٨٠,٧٥
	مطحونة	f	٦٦٤,٠٤	j	١٦٣,١٣	k	٨٦,٠٤	k	٥٦,٤٩	i	٢١٧,٧٧	h	٢٧٢,٨١	l	٣٨,٩٦	l	٣٨,٩٦
الموعد	الموعد الأول	a	٨٢٩٣,٩١	g	٨٢٥,٨٨	e	١٣٥٢,٧٩	e	١٣٥٢,٧٩	b	١٣٤٧,٢٠	b	١٧٦٤,٠٧	c	٣٣٨٠,٧٥	c	٣٣٨٠,٧٥
	الموعد الثاني	f	٩٤٦,٦٤	j	٢٣٢,٤٨	k	١٢٦,٢٣	k	٨٠,٦٩	i	٣٣٤,٠٤	h	٤٠٩,٢٧	m	٤٤,١٤	m	٤٤,١٤
نوع البذرة	الموعد الثالث	a	٣٢٥١,٧٣	g	٣٥١,٦٥	e	٥٢٩,٩٨	e	٥٢٩,٩٨	b	١٥٦٧,٨٤	d	٨٩٩,٨٧	c	١٢٠٣,٥٩	c	١٧١٢,٤٤
	غير مطحونة	a	٤٦٢٠,٢٧	g	٥٢٩,١٨	e	٧٣٩,٥١	e	٧١٣,٩٤	b	٢٢٥٣,٣٢	d	١٠٨٦,٦٧	c	١٧١٢,٤٤	c	١٧١٢,٤٤

جدول (٤): تركيز الأبي كاتيكين (ملغم/كغم) في مستخلص بذور العنب لموسمي التجربة (تمثل القيم العليا نتائج الموسم الأول ٢٠٠٠-٢٠٠١ والقيم الدنيا نتائج الموسم الثاني ٢٠٠١-٢٠٠٢)

الموعد		نوع البذرة		شدة سوداء		رش ميو		كمالي		حلواني		ديس العنز		بهرزي		روسي ٧	
الأول	غير مطحونة	a	٧٦٣٥,٧٢	i	٩٢٠,٣٠	g	١١٤٩,٥١	k	٧٢١,٧٧	c	١٨١٣,٩٦	f	١٢٧٤,٤٦	d	١٦١٧,٧٥		
	مطحونة	b	٦٨٣٦,١٨	j	٧٧٦,٦٨	i	٩٣٥,٦٤	m	٦٠٧,٢٦	d	١٥٨٤,٧٥	h	١٠٦٤,٤٢	e	١٣٨٩,٣٥		
الثاني	غير مطحونة	mn	٥٨٥,٦٨	v	٥,٠٢	rs	١٢٠,٨٢	rs	١٢٠,٤٩	o	٣٦٨,٣٦	uv	١٥,٧٩	s	٨٩,٩٣		
	مطحونة	kl	٩٢١,١٨	op	٣٣٧,٠٥	rstu	٧٢,٤٠	st	٤٥,٦٤	pqr	٢١١,٣٢	stu	٦٣,٩٥	tu	١٩,٩٧		
الثالث	غير مطحونة	lm	٧٩١,٣٢	opq	٢٩٥,٧٥	st	٥٩,٦٩	dtu	٣٦,٥٤	qrst	١٦٩,٨٤	stu	٥١,٨٨	u	١٥,٩٩		
	مطحونة	no	٤١٧,٠٠	u	٢,٦١	st	٥٢,٨٣	u	١٥,٧٧	u	١٢,٥٩	u	٥,٧٧	u	٥,٧٣		
الموعد																	
الموعد الأول		a	٤١٥٠,٣٥	h	٥٨٥,٤٨	h	٦٠٠,٠٠	h	٣٧٦,٦٧	c	٩٨١,٧٥	g	٦٥٩,٤٩	e	٨١٦,٣٠		
الموعد الثاني		b	٣٦٩٨,٥٣	j	٤٩٠,٢٢	j	٢٨٨,٨٠	j	٣١٦,٥٥	d	٨٥٢,٦٦	i	٥٤٩,٣٤	f	٧٠٠,٢٩		
الموعد الثالث		l	٣٣٥,٠٦	p	٣,٤٠	n	٧٩,٣٧	no	٧٠,٤	m	١٩١,٨٤	p	١٠,١٧	o	٤٧,٠١		
نوع البذرة																	
غير مطحونة		a	٥٠١٩,١٩	f	٥٦٧,٣٣	e	٧٣٥,٣٢	e	٤٨٣,١٧	b	١٢٥٥,٦٩	d	٧٨٤,٨٩	c	١٠٣٢,٣٤		
مطحونة		f	٧٠٩,٨٣	g	٢١١,٨٠	hi	٦١,٣٠	kl	٣٢,٦٥	h	١٣١,٢٥	i	٤٠,٥٣	i	١٣,٩٠		
المعدل للصنف		a	٣٨٢٩,٥٢	e	٥٠٤,٨٧	de	٥٥٢,٣٨	f	٣٦٧,٣٧	b	٩٦٨,٨٥	d	٥٦٨,٤٨	c	٧٤٨,٥٠		

1. Catterall, F.; Souquet, J.M.; Cheynier, V.; de pascual-Teresa, S.; Santos-Buelga, C.; Clifford, M.N. and Ioannides, C. "Differential modulation of the genotoxicity of food carcinogens by naturally occurring monomeric and diemeric polyphenolics". *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 35: 86-98, 2000.
2. Jahodar, L. "Plants with hypoglycemic effects". *Gesk-farm*, 42(6): 251-259, 1993.
٣. حجاوي، غسان وحياة حسين المسيمي ورولا محمد جميل قاسم. علم العقاقير والنباتات الطبية. مكتبة دار الثقافة للنشر والتوزيع، مطبعة الأرز. عمان، الأردن، ١٩٩٩، ٣٠٩ صفحة.
4. Fuleki, T. and Ricardo da silva, J. M. "Catechin and procyanidin composition of seeds from grape cultivars grown in Ontario". *J. Agric. Food Chem.*, 45: 1156-1160, 1997.
5. Elliot-Middleton, J. R.; Kandaswami, C. and Theoharides, T. C. "The effect of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease and cancer". *Amer. Soci. for Pharmacology and Exper. Therapeutics*. 25: 673-751, 2000.
6. Pekic, B; Kovac, V.; Alonso, E. and Revilla, E. "Study of the extraction of proanthocyanidins from grape seed". *Food Chemistry*, 61(1/2): 201-206, 1998.
7. Bagchi, D.; Bagchi, M.; Stohs, S.J.; Das, D.K.; Ray, S.D.; Kuszynski, C.A.; Joshi, S.S. and Pruess, H.G. "Free radical and grape seed proanthocyanidin in extract. Importance in human health and disease prevention". *Toxicology*, 148: 187-197, 2000.
8. Yanagida, A.; Takahashi, T.; Kamimura, A. and Hamazona, T. "Fractionation of apple procyanidins according to their degree of polymerization by normal-phase high performance liquid chromatography". *J. Chromatography A.*, 890: 251-259, 2000.
9. Mayer, U.; Treutter, D.; Santos-Buelga, C.; Bauer, H. and Feught, W. "Developmental changes in the phenol concentrations of "Golden Delicious apple fruits and leaves". *Phytochemistry*, 38(5): 111٥-1151, 1995.
10. Bourzeix, M.; Weyland, D. and Heredia, N. "A study of chatechins and procyanidins of grape clusters, the wine and other by-products of the vine". *Bull. O. I. V.*, 59: 1171-1254, 1986.
11. Mahadevan, A. and Sridhar, R. *Methods in physiological plant pathology*. Sivakami publications, Indira nagar, India, 1986.
١٢. بلاسم، زياد طارق. دراسات في الجهد الاليلوبيائي لأصناف مختلفة من زهرة الشمس *Helianthus annuus L.* رسالة ماجستير. كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق، ٢٠٠٠.
13. SAS/Institute. *User's guide for personal computer. released 6.12*. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA ,2001.
14. Katalinic, V. "High-performance liquid chromatographic determination of flavan fingerprints in plant extracts". *J. Chromatography A*, 775: 359-367, 1997.

15.Duman, M.C.; Michaud, J. and Masquelier, J. "Determination of procyanids of grape seeds of red wine and white wine varieties from the Bordeaux region". *Bull. O. I. V.* 64: 533-542, 1991.

١٦. المالكي، زينب صباح لازم. دراسة محتوى بعض اصناف العنب المحلي *Vitis vinifera* L. من المركبات الفينولية. اطروحة دكتوراه، كلية الزراعة، جامعة بغداد، العراق، ٢٠٠٤.