مجلة البصرة للعلوم الزراعية ، العدد (خاص) ، المجلد ، 21 ، 2008

ثباتية وميكانيكية نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة*

نزار أحمد شكري علي خضير جابر

قسم علوم الأغذية والتقانات الأحيائية/كلية الزراعة/جامعة البصرة.

الخلاصـــة

درس تأثير الوقت، درجة الحرارة، المعاملات الكيميائية على ثباتية نواتج تفاعلات ميلارد MRPs المضادة للأكسدة لهذين الخليطين .كما درست قابلية MRPs لاقتناص الجذر الحر، الأوكسجين المفرد، ربط ايون الحديديك. اظهرت MPRs خليط ارجنين- زايلوز ثباتية عالية عند خزنها تحت الظروف الحامضية ، إلا إنها اقل ثباتاً تحت الظروف القاعدية. وأن ثباتية MPRs لخليط ارجنين- فركتوز كانت اكبر من الخليط ارجنين- زايلوز. أفقدت الأكسدة بواسطة برمنكنات البوتاسيوم 33.1 و37.7 % من الفعالية الأصلية للخليطين على التوالي ، اماعند الاختزال بواسطة بوروهيدريد الصوديوم فقدانخفضت الفعالية بمقدار 46.6 و59.0 % على التوالي، إما عند المعاملة بوساطة بيروكسيد الهيدروجين فقد كانت هذه المعاملة محطمة ومقصرة للون النواتج في كلا الخليطين بمقدار النصف تقريباً، إضافة لفقدان 21.8 و37.6 % من الفعالية الأصلية للخليطين على التوالي.وجد ان اقصى فعالية لأقتناص الجذر الحر عند التركيز 50ملغم/مل لكلا الخليطين، كما اتضح ان قابلية الخليطين لاقتناص الاوكسجين المفرد قد ازدادت بزيادة الوقت والتراكيز الا ان هذه القابلية كانت للخليط الثاني اعلى من الخليط الاول واظهر الخليط الاول قابلية ربط لايون الحديديك اعلى من الخليط الثاني.

المقـدمة

استخـدمت العديـد مـن الطرق لدراسة ميكانيكية MRPs المضادة للأكسـدة فـي الأنظمـة النموذجية والغذائية ، ومن أهم تلك الطرق هي قابلية MRPs لاقتنـاص الجـذور الحرة والتي تتعلق بشكل مباشر بأكسـدة الـدهون فـي الأنظمـة الغذائيـة ومنها طريقة اقتناص الجـذر الحر 1,1-Diphenyl Picryl Hydrazyl (DPPH) ، كذلك درست قابليـة MRPs لـربط العناصر المعدنية مثل ايوني الحديديك والنحاسيك كجزء من ميكانيكية هذه النواتج [11]. ودرس [15] ميكانيكية نوعين من MRPs المحضرين من الخليطين (فركتوز – تربتوفان) و (فركتوز – تربتوفان + تربتوفان) وذلك بتقدير قابليتها على ربط ايون الحديديك واقتنـاص الأوكـسجين

المفرد، فقد تفوق الخليط الثاني على الأول. وفيما يتعلق بالثباتية فقد درس [10] تأثير التغير في قيم الأس الهيدروجيني 2، 4، 6، 8 و 10 ومدتي الحضن 2 و 24 ساعة على ثباتية نواتج تفاعلات ميلارد المحضرة من خليط هستدين- كلوكوز. إذ انخفضت الفعالية المضادة للأكسدة لـ MRPs بارتفاع قيمة الأس الهيدروجيني وعند مدتي الحضن، واختبر [14] تأثير الأكسدة ببرمنكنات البوتاسيوم على ثباتية MRPs المحضرة من تسخين خليط تربتوفان- كلوكوز بتركيز (15 : 30) ملي مولاري ، إذ انخفضت الفعالية المضادة للأكسدة بمقدار 60% عند المعاملة بالبرمنكنات. ونظرا" لأهمية صفتي الثباتية والمكانيكية ل MRPs عند استعمالها في الانظمة الغذائية فقد هدفت هذه الدراسة لتقييم ثباتية MRPs للخليطين ارجنين- زايلوز و ارجنين- فركتوز تحت ظروف مختلفة (الوقت، درجة الحرارة، المعاملات الكيميائية) والتعرف على ميكانيكيتها مثل قابليتها لاقتناص الجذر الحر، قابلية اقتناص الاوكسجين المفرد، قابلية ربط ايون الحديديك (Fe^{+++}).

المواد وطرائق العمل

ثباتية نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة: اتبعت الطريقة التي ذكرها [14] لقياس ثباتية نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة وكما يلي:

1- تأثير الأس الهيدروجيني: خلط 5 مل من نواتج تفاعلات ميلارد مع (3)مل من الماء المقطر، عدل الأس الهيدروجيني للقيم (2، 4، 6، 8 ،10و 12) ، ثم أكمل الحجم الكلي إلى 10 مل بالماء المقطر . حضنت النماذج بدرجة حرارة 25م للمدد (10، 20، 30 و 40) ساعة، قدرت الفعالية المضادة للأكسدة استناداً لطريقة [2] كذلك قيست التغيرات في اللون البني حسب الطريقة الموصوفة من قبل [13].

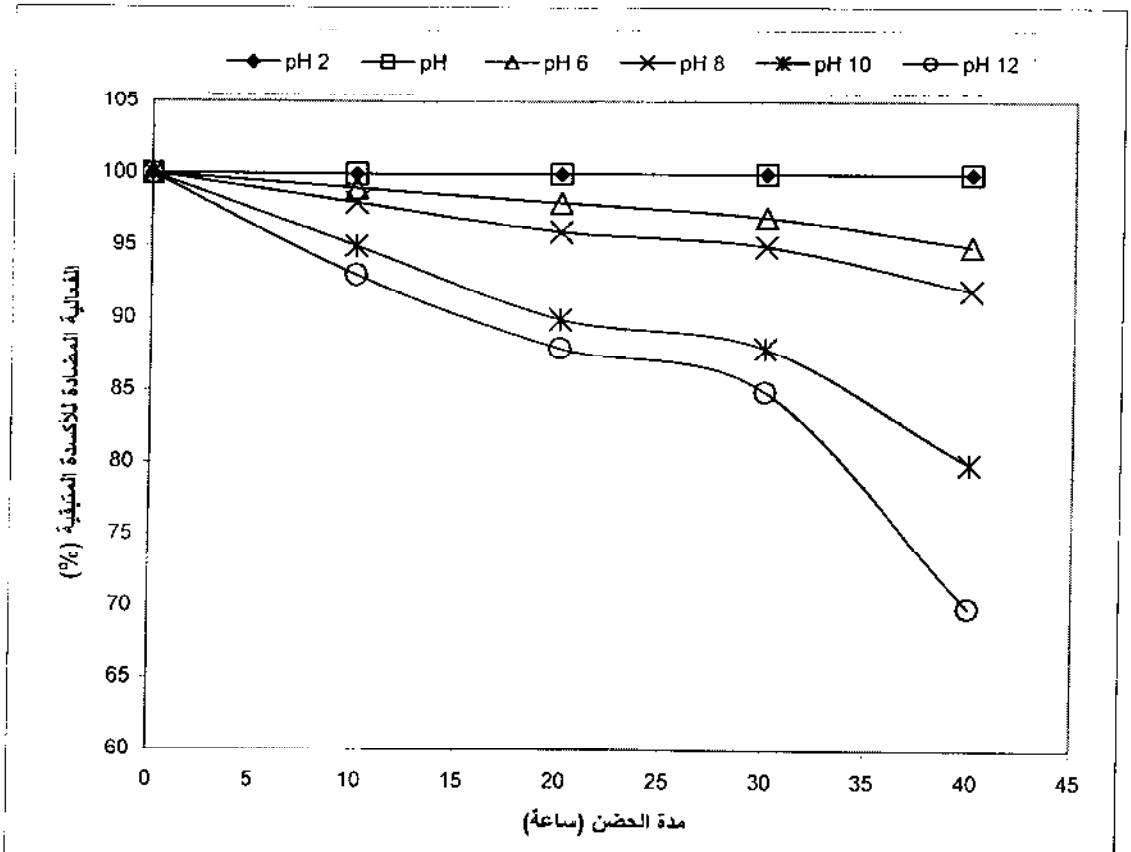
2- الأكسدة بواسطة برمنكنات البوتاسيوم: أضيف إلى خليط [(5مل) نواتج تفاعلات ميلارد و (3مل) برمنكنات البوتاسيوم (2ع)] تدريجياً (2مل) برمنكنات البوتاسيوم (تركيزها 3%) بدرجة حرارة 20م، ثم سخن الخليط حتى الغليان، ثم برد الخليط إلى درجة حرارة 25م ، أضيف (5مل) من الميثانول واجري النبذ المركزي للناتج بسرعة 1000 دورة/دقيقة (5 دقائق). قيست الفعالية المضادة للأكسدة في الراشح، كما قيس اللون للنواتج بعد الأكسدة بقياس الامتصاصية للراشح ، اما العينة الضابطة فحضرت بنفس الطريقة أعلاه باستثناء اضافة 5 مل من الماء المقطر بدلا" من نواتج تفاعلات ميلارد.

3- الاختزال ببوروهيدريد الصوديوم: خلط 5مل من نواتج تفاعلات ميلارد مع 3مل بيريدين ، عدل الأس الهيدروجيني إلى 7.0 ، ثم أكمل الحجم الكلي إلى 10مل بالماء المقطر ثم أذيب

النتائج والمناقشة

اولا"/ثباتية نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة:

1-تأثير الأس الهيدروجيني : يوضح الشكلان (1 و2) تأثير قيم الأس الهيدروجيني المختلفة على الفعالية المضادة للأكسدة لـ MRPs للخليطين ارجنين- زايلوز وارجنين- فركتوز عند الحضن بدرجة 25م . يلاحظ من الشكل (1) عدم حصول فقدان في الفعالية عند قيمتي الأس الهيدروجيني (2 و 4) بتقدم مدة الحضن ، في حين حصل انخفاض طفيف عند قيمتي الأس الهيدروجيني الأعلى (6 و8) ، أما عند قيمتي الأس الهيدروجيني القاعدي (10 و 12) فقد حصل انخفاض واضح في الفعالية وبلغ (20 و 30)% من الفعالية الأصلية للخليط على التوالي وذلك بعد 40 ساعة من الحضن. تدل هذه النتيجة على ثباتية MRPs لخليط (ارجنين- زايلوز) تحت الظروف الحامضية ، إلا إنها اقل ثباتاً تحت الظروف القاعدية مما قلل من الفعالية المضادة للأكسدة للمركبات المتكونة عند تحضير MRPs في هذا الخليط.



الشكل (1) : تأثير الأس الهيدروجيني على الفعالية المضادة للأكسدة لـMRPs في خليط (ارجنين- زايلوز) عند درجة الحرارة (25م)

100ملغم من Sodium borohydride في المحلول وحضن بدرجة حرارة 25مْ لمدة 24ساعة. ثم قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للنواتج المختزلة.

التحطيم ببيروكسيد الهيدروجين: خلط 5مل من نواتج تفاعلات ميلارد مع 3مل من بيروكسيد الهيدروجين (30%) عدل الأس الهيدروجيني الخليط إلى 10 أكمل الحجم الكلي إلى 10مل بالماء المقطر وحضن الخليط بدرجة 37مْ لمدة 22 ساعة ، ثم قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للنواتج .

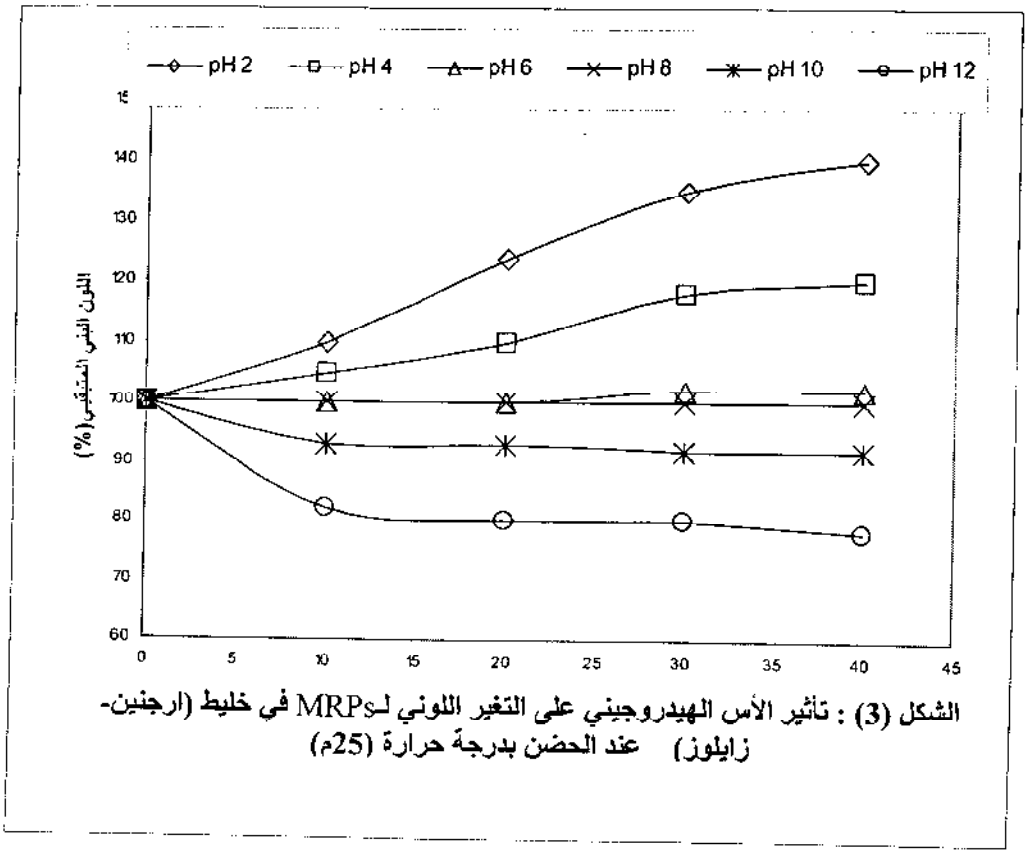
ثانيا"/ ميكانيكية نواتج تفاعلات ميلارد كمضادات للأكسدة

1- قابلية ربط ايون الحديديك: اتبعت الطريقة التي وجدها [15] وتضمنت ما يأتي : خلط 10 مل من كلوريد الحديديك (10ميكروغرام/مل) مع 10ملغم من نواتج تفاعلات ميلارد ، مزج الخليط لمدة 30 دقيقة بدرجة حرارة 25مْ ، ثم أجريت عملية النبذ المركزي بسرعة 1000دورة/دقيقة لمدة 10 دقائق و قدرت كمية ايون الحديد الحر في الراشح في جهاز الامتصاص الذري، كذلك قدرت قابلية سترات الصوديوم و EDTA ثنائي الصوديوم لربط ايون الحديديك بنفس الأسلوب لغرض المقارنة، عبر عن النتائج بمقدار كمية ايون الحديديك المرتبطة (ملغم/غم مادة رابطة).

2- قابلية اقتناص الأوكسجين المفرد: اتبعت الطريقة التي وجدها [15] وكما يأتي : أذيب 400 ملغم من حامض اللينوليك في 1 مل ايثانول يحتوي 5ملغم ازرق المثيلين ثم أضيف للخليط 1مل من نواتج تفاعلات ميلارد بتراكيز (0.5، 1.0، 1.5و 2.0)% بالطريقة نفسها ، حضرت أنابيب بدون وجود ازرق المثيلين عرضت الأنابيب للضوء بمقدار 5000 لوكس لمدة 60 و 120 دقيقة. ثم قدرت قيم TBA لحامض اللينوليك بموجب الطريقة المذكورة في [1].

3- فعالية اقتناص الجذر الحر: قيست فعالية نواتج تفاعلات ميلارد لاقتناص الجذر الحر الثابت 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) حسب الطريقة التي وجدها [6] وتضمنت ما يأتي: أذيبت MRPs بتراكيز 50,40,30,20,10 ملغم/مل في محلول دارئ الفوسفات (0.1مولاري، pH 7.0)، خلط 1 مل من المحاليل المحضرة مع 1مل من محلول DPPH. رج الخليط بشدة وترك لمدة 60 دقيقة بدرجة حرارة الغرفة قيست الامتصاصية للمحلول الناتج عند الطول الموجي 517 نانوميتر أما نموذج العينة الضابطة فقد حضر بخلط 1مل من محلول دارئ الفوسفات المحضر سابقاً مع 1مل من محلول DPPH وقيست الامتصاصية بعد الخلط مباشرة.

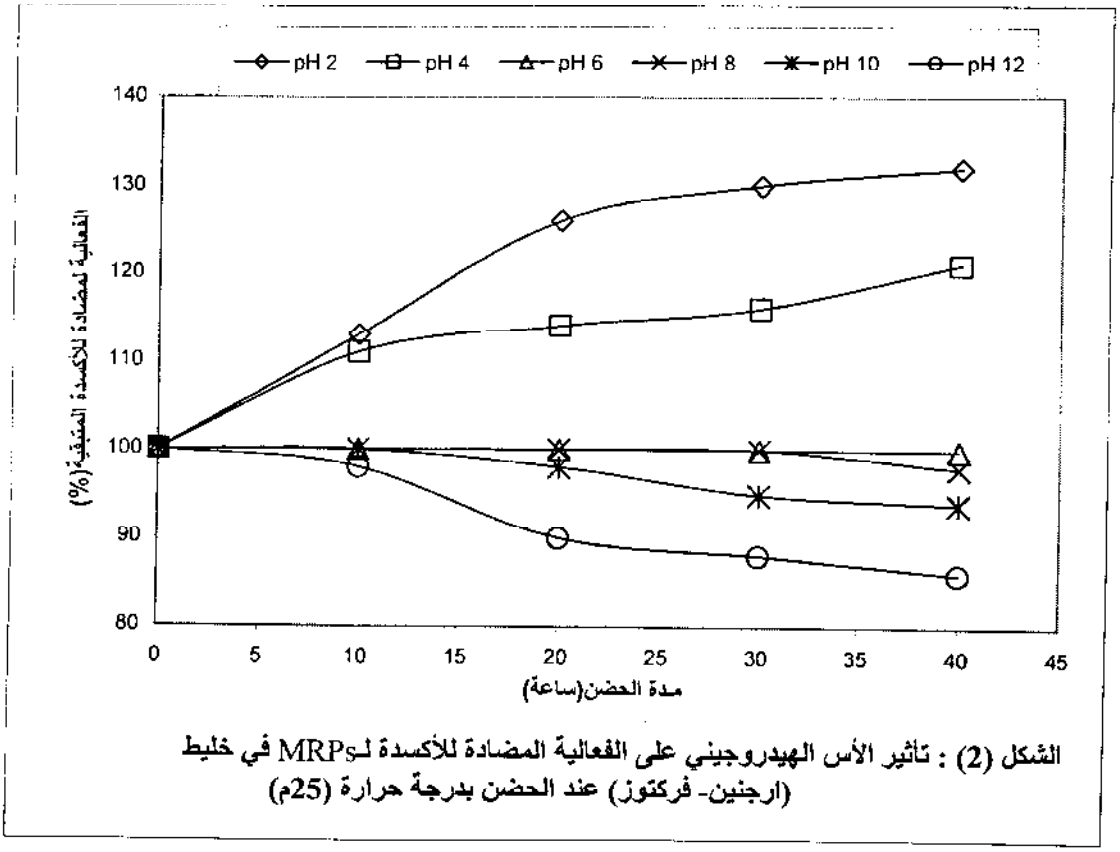
يبين الشكلان (3 و4) تأثير قيم الأس الهيدروجيني المختلفة على التغير في اللون البني لـــ MPRs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و(ارجنين- فركتوز) عند الحضن بدرجة 25مْ. يتضح من الشكل (3) أن لون الخليط أصبح أدكن عند الأس الهيدروجيني الحامضي مقارنة بالأس الهيدروجيني القاعدي.



الشكل (3) : تأثير الأس الهيدروجيني على التغير اللوني لـMRPs في خليط (ارجنين- زايلوز) عند الحضن بدرجة حرارة (25م)

أما بالنسبة لخليط ارجنين- فركتوز (الشكل 4) فقد ازدادت دكنة اللون البني لهذا الخليط عند قيم الأس الهيدروجيني الحامضي بشكل اكبر من خليط ارجنين- زايلوز خصوصا" عند الأس الهيدروجيني 2 ، إذ ازداد اللون البني بشكل سريع بعد 20 ساعة من الحضن، بعدها أصبحت الزيادة تدريجية وبلغ مقدار التلون البني ضعف الخليط الأصلي وذلك بعد 40 ساعة من الحضن. أما عند قيم الأس الهيدروجيني 6، 8 و 10 فلم تلاحظ تغيرات واضحة في مقدار التلون البني بتقدم مدة الحضن ولوحظ انخفاض بسيط في مقدار التلون البني عند الأس الهيدروجيني 12 بتقدم مدة الحضن مقارنة بالخليط الأصلي.

إما في الشكل (2) فيلاحظ إن الفعالية المضادة للأكسدة لمركبات MPRs في خليط (ارجنين- فركتوز) قد ازدادت بشكل واضح عند قيمتي الأس الهيدروجيني (2 و4) بعد 40 ساعة من الحضن. وقد ترجع زيادة الفعالية المضادة للأكسدة لمركبات MRPs بانخفاض الـ pH إلى إن الظروف الحامضية قد تساعد على تكوين مركبات مضادة للأكسدة جديدة أو حصول عملية تنشيط للمركبات المتكونة سابقاً إثناء تحضير MRPs للخليط [8]. أما عند قيم الأس الهيدروجيني الأعلى (6 و8 و10) فلم يلاحظ فقدان واضح في الفعالية بتقدم مدد الحضن، في حين حصل انخفاض تدريجي في الفعالية عند الأس الهيدروجيني (12). تدل هذه النتيجة على ثباتية MPRs لخليط ارجنين- فركتوز عند جميع قيم الأس الهيدروجيني المختبرة وبشكل اكبر من الخليط ارجنين- زايلوز، هذا قد يرجع إلى التباين الحاصل في طبيعة المركبات الكيميائية المضـــادة للأكســـدة لكلا الخليطين، إما سبب الانخفاض في الفعالية المضادة للأكسدة عند الأس الهيدروجيني القاعدي فأنها ترجع إلى تفكك المركبات المضادة للأكسدة المتكـــونة عنـــد تحضير MPRs [9].



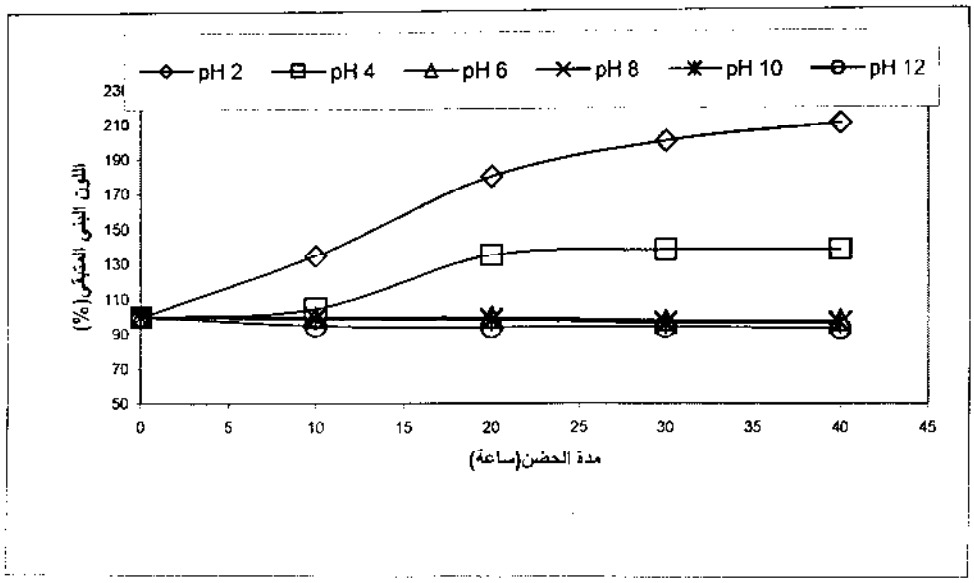
الشكل (2) : تأثير الأس الهيدروجيني على الفعالية المضادة للأكسدة لـMRPs في خليط (ارجنين- فركتوز) عند الحضن بدرجة حرارة (25م)

الجدول (1): تأثير المعاملات الكيميائية(الاكسدة ،الاختزال ،التحطيم) على الفعالية المضادة للأكسـدة والتغير في اللون البني لـ MRPs في الخليطين (ارجنين- زايلوز) و(ارجنين- فركتوز).

المعاملة الكيميائية	النسبة المئوية للاحتجاز			
	خليط (ارجنين- زايلوز)		خليط (ارجنين- فركتوز)	
	الفعالية المضادة للأكسدة	التغير اللوني	الفعالية المضادة للأكسدة	التغير اللوني
الأكسدة بواسطة $KMnO_4$	66.9	67.4	62.3	53.7
الاختزال بواسطة $NaBH_4$	43.4	46.6	41.0	60.7
التحطيم بواسطة H_2O_2	78.2	48.1	72.4	49.3

ثانيا"/ميكانيكية نواتج تفاعلات ميلارد المضادة للأكسدة:

1- اقتناص الجذر الحـر: يبين الجـدول (2) تـأثير اسـتخدام (MRPs) للخليطـين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) بتراكيز مختلفة لاقتناص الجذر الحـر الثابـت 1,1- diphenyl -2-picrylhydrazyl (DPPH) . ازدادت قابليـة الخليطيـن لاقتنـاص الجـذر الحـر بزيـادة التراكيز ، وقد تفوق خليط (ارجنين- فركتوز) فـي قابليـة الاقتنـاص علـى خليط(ارجنين- زايلوز) وعند جميع التراكيز المستخدمة. تدل هذه النتيجة علـى إن (MRPs) لكلا الخليطين تحتوي على مركبات واهبة للهيدروجين قادرة على التفاعل مع الجـذور الحـرة لتحويلها إلى نواتج أكثر ثباتاً ، إذ عزا [17] فعالية اقتناص الجذر الحر لـ MRPs لأحتواءهـا على بعض المركبات الفينولية المحتوية على مجاميع الهيدروكسيل ومنها الميلانويدنات المتكونة عند تحضير هذه النواتج ومن ثم فان MRPs تخضع للنظرية القائلة بان المجموعـة المانحـة للإلكترون تزيد فعالية اقتناص الجـذور الحـرة وان المجموعـة المـستقبلـة للإلكتـرون تخفض فعالية اقتناص هذه الجذور [12]. تتفق النتائج أعلاه مع [6] و[3]و[4] عنـد دراسـتهم لقابلية (MRPs) المتكونة من تفاعل السكريات المختزلة مع الأحماض الامينية أو البروتينـات لاقتناص الجذر الحر DPPH .



الشكل (4):تأثيرالاس الهيدروجيني على التغير اللوني لMRPs في خليط (ارجنين- فركتوز) عند الحضن بدرجة حرارة (25م).

2- تأثير المعاملات الكيميائية: يوضح الجدول (1) تأثير المعاملات الكيميائية على الفعالية المضادة للأكسدة والتغير في اللون البني لـ MRPs في الخليطين (ارجنين- زايلوز) و(ارجنين- فركتوز) . يلاحظ من الجدول إن الأكسدة بواسطة برمنكنات البوتاسيوم قد أفقدت (33.1 و37.7)% من الفعالية الأصلية للخليطين على التوالي، كما إن الأكسدة تسببت في قصر اللون البني بمقدار (32.6 و46.3)% ، تدل هذه النتيجة على إن الأكسدة قد أثرت في خليط (ارجنين- فركتوز) بشكل اكبر من خليط (ارجنين- زايلوز). تتفق هذه النتيجة مع [14] عند أكسدة MRPs للخليطين (تربتوفان- كلوكوز) و(فركتوز-تربتوفان + تربتوفان) بواسطة برمنكنات البوتاسيوم ، وعند الاختزال بواسطة بوروهيدريد الصوديوم أفقدت (56.6 و59.0)% من الفعالية الأصلية للخليطين(ارجنين- زايلوز) و(ارجنين- فركتوز) على التوالي، مما يدل على فقدان اكبر من فعالية خليط (ارجنين- فركتوز). إما عند المعاملة بواسطة بيروكسيد الهيدروجين فقد كانت هذه المعاملة محطمة ومقصرة للون بمقدار النصف تقريباً، فضلاً عن فقدان (21.8 و27.6)% من الفعالية الأصلية للخليطين المذكورين.

الجدول (2): قابلية MRPs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) لاقتناص الجذر الحر DPPH بالمقارنة مع BHT و DMSO

فعالية الاقتناص لـ MRPs (%)		
التراكيز (ملغم/مل)	خليط (ارجنين- زايلوز)	خليط (ارجنين- فركتوز)
10	16.0	18.1
20	32.9	38.5
30	35.6	47.3
40	36.9	47.6
50	37.2	47.8

2- اقتناص الأوكسجين المفرد: يوضح الجدول (3) تأثير استخدام MRPs الخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) بتراكيز مختلفة لمنع الأكسدة الضوئية لحامض اللينوليك بعد تعرضه للضوء لمدة 60 و 120 دقيقة. يلاحظ أن أكسدة حامض اللينوليك ظهرت بشكل واضح بغياب MRPs خصوصاً بعد 120 دقيقة من تعرضه للضوء، ألا أنها منعت عند إضافة MRPs وقد ازدادت نسبة المنع بزيادة التراكيز المضافة لكلا الخليطين ،إلا إن قابلية خليط (ارجنين- فركتوز) لمنع الأكسدة الضوئية لحامض اللينوليك أعلى من خليط (ارجنين- زايلوز). تتفق النتائج أعلاه مع [15] عند دراستهم لميكانيكية اقتناص الأوكسجين المفرد بفعل MRPs للخليطين (تربتوفان- كلوكوز) و (تربتوفان- فركتوز + تربتوفان) ، إذ اظهر الخليطان قابلية لاقتناص الأوكسجين المفرد وقد توافقت هذه القابلية مع التأثير المضاد لأكسدة حامض اللينوليك للخليطين. واستنتج [5] أن الميلانويدنات المعزولة من MRPs قد امتلكت قدرة عالية لاقتناص جميع أنواع الأوكسجين الفعال.

الجدول (3): تأثير MRPs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) لمنع الأكسدة الضوئية لحامض اللينوليك المحفزة بالأوكسجين المفرد

مدة التعريض للضوء (دقيقة)	قيم TBA (ملغم مالونديهايد/كغم حامض اللينوليك)*								
	تركيز خليط (ارجنين- زايلوز)%				تركيز خليط (ارجنين- فركتوز)%				
	صفر	0.5	1.0	1.5	2.0	0.5	1.0	1.5	2.0
60	8.9	8.4	7.8	7.2	6.2	7.9	6.8	5.0	3.8
	(0.0)	(5.6)	(12.3)	(19.1)	(30.3)	(11.2)	(23.5)	(43.8)	(57.3)
120	25.3	17.4	14.3	13.4	10.8	14.1	11.0	8.0	7.1
	(0.0)	(31.2)	(43.4)	(52.9)	(57.3)	(44.2)	(56.5)	(68.3)	(71.9)

* الأرقام في داخل الأقواس تمثل النسبة المئوية لمنع الأكسدة الضوئية لحامض اللينوليك

3- ربط ايون الحديديك: يوضح الجدول (4) قابلية MRPs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) لربط ايون الحديديك وبالمقارنة مع الاثيلين ثنائي أمين حامض الخليك ثنائي الصوديوم (EDTA-2Na) وسترات الصوديوم. اظهر الخليطان قابلية ربط لايون الحديديك ، إلا إن هذه القابلية لخليط (ارجنين- فركتوز) أعلى من خليط (ارجنين- زايلوز) . إلا إن مادتي الربط EDTA-2Na وسترات الصوديوم أظهرت قابلية ربط أعلى من MRPs وبلغت النسبة المئوية. تدل هذه النتيجة على إن MRPs تمتلك جزءً من فعالية ربط الايون المعدني ومن ثم فان هذه الفعالية أسهمت تعاونياً (Synergistic effect) في التأثير المضاد لـ MRPs لأكسدة حامض اللينوليك .تتفق النتائج أعلاه مع [7] ، إذ لاحظوا بان الميلانويدنات المحضرة من خليط تفاعل ميلارد كلايسين- زايلوز كوّنت بسهولة معقدات مع الأيونات Cu^{+2} ، Fe^{+2}، Fe^{+3} ، Zn^{+2} و Mg^{+2} وان هذه المعقدات لا تمتلك فعالية مساعدة للأكسدة. كذلك اقترح [16] أن MRPs تمتلك بعض القابلية لتثبيط المعادن و التي قد تسهم تعاونياً لتطوير التأثير المضاد للأكسدة. على النقيض من ذلك فان الميلانويدنات المحضرة بواسطة تفاعل مركبات α و β - ثنائية الكاربونيل مع مشتقات الأمين لم تمنع الأكسدة الذاتية للدهون بوجود ايون الحديديك ، إلا إن هذه الأكسدة منعت بوجود ايون النحاسيك.

الجدول (4): قابلية MRPs للخليطين (ارجنين- زايلوز) و (ارجنين- فركتوز) لربط ايون الحديديك بالمقارنة مع EDTA-2Na وسترات الصوديوم

المادة الرابطة	كمية ايون الحديديك المرتبطة (ملغم/غم مادة رابطة)	النسبة المئوية للربط*
خليط (ارجنين- زايلوز)	1.12	11.2
خليط (ارجنين- فركتوز)	3.75	37.5
EDTA-2Na	7.25	72.5
سترات الصوديوم	4.50	45.0

المصادر

1-Association of Official Agriculture Chemists (A.O.A.C.) (1975). Official Methods of Association of Official Agriculture Chemists. Washington D.C., U.S.A.

2-Bersuder, P.; Hole, M. & Smith, G. (1998). Antioxidants from a heated histidine-glucose of the antioxidant role of histidine & isolation of antioxidants by High Performance Liquid Chromatography. J. Am. Oil. Chem., 75: 181-187.

3-Bersuder, P. & Hole, M. (2004). The isolation & characterization of potential antioxidants from a heated histidine-glucose model system. J. Am. Oil. Soc., 8 (1): 11-19.

4-Catherine, B.; Marie- Noelle, P.; Yin-Nai, C.; Clauaette, B. & Jacques, N. (2004). Antioxidant properties of model Maillard systems prepared from glucose with proline,glycine,lysine, arginine, cysteine or glutathione .Food chem., 84: 223-233.

5-Hayase, G.; Hirashima, S.; Okamoto, G. & Kato, H. (1989). Scavenging of active oxygens by melanoidins. Agric. Boil. Chem., 53: 3383-3385.

6-Jing, H. & Kitts, D. D. (2002). Chemical & biochemical properties of casein-sugar Maillard reaction products. Food & Chemical Toxicology40 (7):1005-10015.

7-Kajimoto, G. , Yoshida, H. & Takamori , Y. (1975). Reaction between the browning reaction products from glycine , reducing sugars & metals .Yukagaku , 24:15-21.

8-Korczak, J. ; Hes, M.; Gramza, A. & Jedrused; A.(2004). Influence of fat oxidation on the stability of lysine & protein digestibility in frozen meat products. Food Sci. Technol., 7(1):1505-1515.

9-Kwak, E. J.; Lee, Y. S.; Murata, M. & Homma, S.(2005). Effect of pH control on the intermediates & melanoidins of nonenzymatic reaction .Lebensm. Wiss. U. Technol.,38:1-6 .

10-Lingnert, H. & Waller, G. R. (1983). Stability of antioxidants formed from histidine & glucose by the Maillard reaction. J. Agric. Food Chem., 31: 27-30.

11-Moreno, C. S. (2002).A Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods & biological systems. Food. Sci. Technol. Int., 8 (3): 121-137.

12-Romero, A. M.; Doval, M. M.; Sturla, M. A. & Judis, M. A. (2004). Antioxidant properties of polyphenol-containing extract from soybean fermented. Eur. J. Lipid. Sci. Technol., 106: 424-431.

13-Tanaka, M.; Wen-Kue, C.; Nagashima, Y. & Taguchi, T. (1990b). Development of antioxidative effect during the Maillard reaction between tryptophan & glucose.J. Tokyo Univ. Fish.,77 (1):33-41.

14-Tanaka, M.; Chiu, W. K.; Nagashima, Y. & Taguchi, T. (1992a). Stability of the antioxidative Maillard reaction products. J. Tokyo Univ. Fish., 79 (1): 1-8.

15-Tanaka, M.; Chiu, W. K.; Nagashima, Y. & Taguchi,T. (1992b). Inhibitory effect of the Maillard reaction products towards lipid oxidation. J. Tokyo Univ. Fish., 79 (2): 135-141.

16-Yamaguchi, N. & Fujimaki, M. (1974). Comparison of antioxidative activity of melanoidin with of each tocopherol homologue & synergistic effect of melanoidin. Nippon Suisan Gakkaishi, 21: 13-18.