דו"ח לתכנית מחקר מספר : **820-0277-11**

לשנת 2013, דו"ח מסכם

השפעת תוספת פוליפנולים מגפת זיתים נטולת חרצנים לשיפור איכות החלב ובריאות במעלי גירה יצרניים

Effect of poly phynoles from olive cake in ruminants ration on milk composition and heath

מוגש להנהלת ענף בקר ע"י

סמיר מבגיש המחלקה לבעלי חיים, הפקולטה לחקלאות, מזון וסביבה ע"ש רוברט ה. סמית, האוניברסיטה העברית.
זוהר כרם המכון לביוכימיה ותזונת האדם, הפקולטה לחקלאות, מזון וסביבה ע"ש רוברט ה. סמית, האוניברסיטה העברית.

Sameer J. Mabjeesh, Department of Animal Sciences, The Robert H. Smith Faculty of Agriculture, Food, and Environment, The Hebrew University of Jerusalem, P.O.B. 12, Rehovot 76100. E-mail: Mabjeesh@agri.huji.ac.il

תקציר

תעשיית שמן הזית בארץ מייצרת, ע"פ דיווחים של מועצת הזית, כ- 25000 טון פסולת חקלאית מימית (ע'קר) וכ 12000 טון פסולת חקלאית מוצקה (המכונה פולפה או גפת). הטכנולוגיה המובילה בבתי הבד הבי-פאזיים החדשים כוללת הפרדה של הגפת לפולפה נטולת חרצנים (רטובה) ולשברי גלעינים יבשים. לגפת נטולת החרצנים פוטנציאל תזונתי ונוגד חמצון הנובע בעיקר מתכולת התאית, חומצות השומן, החלבון, הפוליפנולים וויטמין E. אולם בנוסף לכך קיימים בגפת חומרים כמו Squalene (Sq) ו β-sitosterol, בעלי פעילות ביולוגית ייחודית. חומרים נוגדי חמצון ידועים בהשפעתם המיטיבה על מניעה והקטנה של התפתחות מחלות במעלי גירה בפרט וביונקים בכלל. לאור האמור לעיל, אנו מציעים לנצל את הגפת נטולת החרצנים כתוספת מינימאלית במנת עזים חולבות, כמות שהיא ולבחון את תרומתה להעלאת ייצור החלב ולשיפור הרכבו (חלב בריא), להורדת מספר התאים הסומאטיים ולהקטנת ההסתברות של דלקות עטין קליניות ותת-קליניות ובחינת השפעת התוסף על מעמד פוטנציאל החימצון בבעל החיים. במחקר אפיינו את גפת הזיתים שנלקחה מבית בד בכרמי יוסף שהשתמש בתערובת של זנים כולל זני בר. פרופיל חומצות שומן ופוליפינולים נמדדו. כמו כן, נמצא שגפת זיתים ללא חרצנים מורידה נעכלות חומר יבש במבחנה בכל הרמות שהוספה למנה. בחלק השני של המחקר בוצעו ניסויים ברמת החיה השלמה בעזים חולבות ויבשות. בעזים היבשות בוצע מחקר למדידת השפעת תוספת הגפת ברמות של 0, 0.5, 5 ו-10% בחומר היבש של המנה הנצרכת על כשר האנטיאוקסידנטי של חלב ודם וצרכית מזון. הניסוי השני בוצע על עיזים חולבות לבדיקת צריכת מזון, ייצור ואיכות חלב, כשר אנטיאוקסידנטי של חלב וארתרוציטים כאשר רמת הגפת היתה 0.5% מהחומר היבש במנה הנצרכת. ניסוי זה היה ארוך טווח החל עם העזים מיד לאחר ההמלטה ועד 14 שבועות בתחלובה. עיקר ממצאי הניסוי עם החולבות היו עליה בצריכת המזון עם התוסף, מאידך היתה ירידה מובהקת ביצור החלב. תכולת שומן החלב היתה נמוכה יותר בקבוצת הביקורת (3.43% לעומת 3.96%, $P< 0.05$). ואילו תכולת החלבון היתה זהה בין הטיפולים. כשר אנטיאוקסידנטי בחלב ואריתרוציטים היו זהים ואילו בפלזמה היה נמוך יותר במנת הטיפול. בניסוי השני שבדק השפעת רמות הגפת במנה על כשר אנטיאוקסידנטי בכדוריות הדם האדומות הראה השפעה מובהקת של התוסף על גלוטטיון אך לא בפלזמה. ההשפעה היתה שלילית בריכוז הנמוך וחיובית בריכוז הגבוה (10% במנה).

הצהרת החוקר הראשי:
הממצאים בדו"ח זה הינם תוצאות ניסויים.
הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר: _____ **תאריך: 26/05/2014**

רשימת פרסומים שנבעו מהמחקר: עבודת גמר: Olive cake in small ruminants ration ושני מאמרים בשלבי הכנה.

תוכן עניינים

	עמוד
1. מבוא	3
2. מטרות המחקר	4
3. פירוט המחקר	4
4. תוצאות	5
4.1. תוצאות בעיזים יבשות	6
4.2. תוצאות בעיזים חולבות	7
5. דיון	8
6. רשימת ספרות מצוטט	9

1. מבוא:

תעשיית שמן הזית בארץ מייצרת, ע"פ דיווחים של מועצת הזית, כ- 25000 טון פסולת חקלאית מימית (ע'קר) וכ 12000 טון פסולת חקלאית מוצקה (המכונה פולפה או גפת). מכל טון של זית מופקים 200 ק"ג של שמן ו- 800 ק"ג פסולת (Alburquerque et al., 2004). מפסולת חקלאית זו המצטברת בעונת המסיק והפקת השמן בכמויות עצומות מהווה בעיה סביבתית ממעלה ראשונה, ונכון להיום היא בגדר משאב טבעי לא מנוצל. הטכנולוגיה המובילה בבתי הבד הבי-פאזיים החדשים, שהופכים להיות העיקריים בתעשיית ייצור שמן הזית בארץ, כוללת הפרדה של הגפת לפולפה נטולת חרצנים (רטובה) ולשברי גלעינים יבשים. קל למצוא שימוש לשברי הגלעינים, אולם הגפת נטולת החרצנים מהווה מטרד סביבתי קשה בגלל תכולת החומר האורגני הגבוהה, והאופי הבלתי פריק (Morillo et al., 2009). לבעיות אלו נוספת בעיית שינוע והובלה. מחקרים רבים עסקו בניצול פסולת בתי בד למטרות עשיית קומפוסט (Benitez et al., 2005). כמו כן, מחקרים אחרים הראו הצלחה מוגבלת במתן הפסולת של תעשיית השמן כמות שהיא כמזון למעלי גירה. חוסר ההצלחה לניצול הפסולת על ידי חיות משק נובע בעיקרו מריבוי וריכוז גבוה של חומרים אנטי תזונתיים כמו פולי פינולים וליגנין שמעכבים הן את הפעילות המיקרוביאלית (מק"א) בכרס והן את פעילות האנזימטית במערכת העיכול (Molina Alcaide et al., 2003, Brozzoli et al., 2010). יתרה מכך, טיפול בפסולת באמצעות תוספת של אנזימים פיברוליטיים או שמרי מאפיות לא שיפרה את ערכה התזונתי (Khosravifar et al., 2008).

לגפת נטולת החרצנים פוטנציאל תזונתי למעלי גירה הנובע בעיקר מתכולת התאית, חומצות השומן, החלבון ופוטנציאל נוגד חימצון בזכות הפוליפנולים וויטמין E (Weinberg et al., 2008, Shabtay et al., 2009). בממוצע פסולת זו מכילה 6.7% חומר יבש (ח"י), 56% חומר אורגני (ח"א), 6.4 שומן כללי, 5% פוליפינולים וכ- 7.2% פחמימות (Morillo et al., 2009). נעכלות החומר היבש של גפת זיתים נטולת חרצנים נמוך ביותר (40%) ושל גפת מחורצנת נמוך אף יותר (מתחת ל-30%). ריכוז גבוה של פוליפינולים וטנינים במנה עלול לפגוע בנעכלות וספיגת החלבון במנה ובייצור החלב. לכן, השימוש במוצר הלוואי הנ"ל מוגבל ויש לנקוט באסטרטגיות תזונתיות מבוססות לפני שילובו בבלילים. אולם בנוסף לכך קיימים בגפת חומרים כמו (Sq) Squalene ו β-sitosterol, בעלי פעילות ביולוגית ייחודית (Omar, 2010). Sq הנו תרכובת טרי-טרפנטינית הידרו-פחמנית הנמצאת בכבד של כרישים ושמן זית (Warleta et al., 2010). בשמן זית כתית (virgin olive oil) תכולת ה-Sq מהווה 0.8-13 גר'/ ק"ג עם נוכחות מעל 90% מכלל הפחמימנים (Cert et al., 2000). ה-Sq הנו מטבולית ביניים בסינתזת הכולסטרול, ונחשב לרכיב ביואקטיבי משמעותי עם פעילויות ביולוגיות חשובות. בין יתר הפעילויות המיוחסות ל- Sq ניתן למנות מניעת חמצון של חומצות שומן, פעילות אנטי-סרטנית והורדת רמות הכולסטרול והטריגליצרידים (Owen et al., 2000, Warleta et al., 2010).

יותר מ-40 פיטוסטרולים זוהו בתרכובות הזית כאשר ה-sitosterol, campesterol ו-stigmasterol השכיחים ביותר. תרכובות העשירות באסטרים של סטרולים צמחיים מאופיינים בפעילות מוגברת של הורדת ריכוזי

הכלסטרול בדם באמצעות הורדת הספיגה במעי הדק של כולסטרול ועיכוב סינתזת LDL אפוליפופרוטאין B בכבד (Katan et al., 2003). הפעילות האחרונה משותפת גם ל β-sitosterol.

חומרים נוגדי חמצון ידועים בהשפעתם המיטיבה על מניעה והקטנה של התפתחות מחלות במעלי גירה בפרט וביונקים בכלל. כך למשל, הוספת ויטמין E למנה של עגלי פיטום הורידה את מקרי התחלואה של עגלים בדלקות ריאות ביותר מ 20%, תוך שיפור ביצועי הגדילה שלהם (תוצאות מקבוצת המחקר של שבתאי). במחקרים שביצענו הראינו שפולפינולים ונגזרותיהם מעלי זית נספגים במעי של עיזים חולבות, וחלקם אף מופיע בנוזל הדם ומופרש בחלב (למשל חומצות גאלית). תוצאות נוספות מלמדות גם כי פוליפנולים מקליפות רימון, כנראה בזכות התכונות נוגדות החמצון ונוגדות הדלקת שלהם, ממתנים את העקה החמצונית הנוצרת בעקבות גמילת עגלים, ומגבירים את הספיגה של ויטמין E מהמזון (Shabtay et al., 2008). לאור האמור לעיל, אנו מציעים לנצל את הגפת נטולת הרצנים כתוספת מינימאלית במנת עזים חולבות (1-5% מהח"י בבליל), כמות שהיא או כמוצר בעל חיי מדף על ידי שימוש באיסום בחבילות דחוסות, ולבחון את תרבשומתה להעלאת ייצור החלב ולשיפור הרכבו (חלב בריא), להורדת מספר התאים הסומאטיים ולהקטנת ההסתברות של דלקות עטין קליניות ותת-קליניות.

2. <u>מטרות המחקר</u>

מטרות המחקר: אפיון הגפת, לפתח פרוטוקול הזנה למוצר הלוואי "גפת זית נטולת חרצנים" כתוסף, שריכוזו במנה בח"י יהיה בין 1-5% שיביא לשיפור בריאות בעל החיים.

3. פירוט עיקרי הניסויים

בשנה ראשונה העבודה החלה באיסוף גפת נטולת חרצנים מבית בד באזור כרמי יוסף. הגפת שנאספה השנה הייתה תוצר של כבישת זיתים מזנים שונים כולל זני בר. כמות הגפת שנאספה תספיק למהלך המשך המחקר. הגפת חולקה לפחי אשפה בעלי (60 ליטר) עם מכסה ומיד בהגעה הוכנה למקפיא עד לשימוש.

בשלב ראשון בוצעה אנליזה כימית על הגפת כולל פרופיל חומצות שומן ותרכובות פולי-פינוליות ו-Sq. כמו כן, בוצעו מבחני נעכלות במבחנה למדידת השפעת תוספת גפת יבשה בריכוזים של 0.5, 1 ו-2% על בסיס ח"י במנה. יש לציין שהגפת היבשה ששמשה לבדיקות הנעכלות יובשה בהקפאה ונטחנה במטחנת סכינים לגודל של 1 מ"מ. בשלבים המאוחרים של המחקר בוצעו ניסויים ברמת בעל החיים השלם בעיזים יבשות וחולבות. בוצע ניסוי הקדמי לבחינת השפעת צריכת מזון עם תוספת של גפת למנה של עיזים חולבות (בסוף תקופת התחלובה) בריכוזים הולכים ועולים (0, 0.5, 5 ו-10% בחומר היבש) לבחינת השפעת הגפת על צריכת מזון וכשר האנטיאוקסיטנדי של דם, פלזמה וחלב. ניסוי זה מערך בעקבות תוצאות שנה א' שהראה ירידה בנעכלות של

חומר יבש של כלל המנה. ניסוי עוקב בוצע על עיזים חולבות מהמלטה ועד 90 ימים בתחלובה. הניסוי הכיל שני טיפולים: ביקורת ותוספת של 0.5% כאמור בחומר יבש של המנה היומית.

אנליזה כימית בוצעה בהתאם לפרוטוקולים סטנדרטים. בדיקת כשר החימצוני של נוזלי הדם והחלב בוצע בהתאם לפרוטוקל של Shabtay et al., (2008). אנליזות הקשורות בבדיקות גלותתיון מחוזר ומחומצן בוצעו בהתאם לפרוטוקול המתואר ב (Rahman et al., 2007).

4. תוצאות:

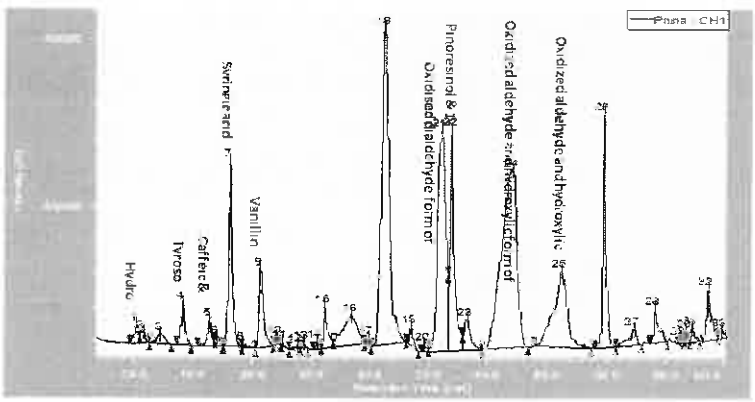
טבלה מס' 1 מתארת אנליזה כימית של גפת זיתים נטולת חרצנים.

טבלה מס' 1. הרכב כימתי של גפת זיתים נטולת חרצנים מזנים שונים של זיתים. הערכים מבוטאים באחוזים ע"ב חומר יבש.

	ח"י	אפר	מיצוי אתרי	חלבון כללי	NDF	ADF	Cellulose	Lignin
גפת זיתים	31.7	7.39	4.65	7.35	44.6	28.2	23.8	6.01

תכולת הפולי-פנולים בגפת היתה 0.16±5.49 מ"ג/ גר'. גרף מס' 1 מראה כימוטגרמה של התפלגות הפולי-פנולים בגפת. תכולת ה-Sq בגפת נטולת החרצנים היתה 1.43 גר'/ ק"ג שמן.

גרף מס' 1. התפלגות פולי-פנולים בגפת נטולת חרצנים מזנים שונים של זיתים.



כמו כן, בוצעה אנליזה להרכב פרופיל חומצות שומן בגפת נטולת החרצנים. טבלה מס' 2 מתארת את פרופיל חומצות שומן בשמן שהופק מהגפת. ניתן לראות שפרופיל חומצות שומן דומה לזה של שמן זית, כאשר חומצות השומן C18:1 Cis הנה הדומננית ולאחריה חומצת השומן C18:2.

בנוסף להנ"ל, גפת זיתים נטולת חרצנים יבשה שמשה כתוסף בריכוזים של 0.5, 1 ו-2% (על בסיס חומר יבש) בניסוי נעכלות של חומר יבש במבחנה על מנה המורכבת תערובת טלאים ושחת קטנית ביחס של 1:1. תוצאות ניסוי מובאות בטבלה מס' 3. ניתן לראות שתוספת של גפת בכל הרמות הקטינה את נעכלות חומר יבש במבחנה כאשר הירידה הגדולה ביותר באה לידי ביטוי בריכוז 2% מחומר היבש (68.7% לעומת 53.7%).

טבלה מס' 2. הרכב חומצות שומן בשמן שהופק מגפת נטולת חרצנים ממקור זנים שונים של זיתים.

Fatty acid	Profile	(% of total)
C14:0	0.025	
C16:0	12.96	
C16:1 trans	0.122	
C16:1 cis	0.710	
C16:1 total	0.832	
C17:0	0.190	
C17:1	0.245	
C18:0	3.481	
C18:1 cis	62.12	
C18:1 trans	1.68	
C18:1 total	63.80	
C18:2	13.65	
C18:3	0.785	
C20:0	0.810	
C20:1	1.154	
C22:0	0.031	
C24:0	0.899	

טבלה מס' 3. השפעת תוספת של גפת זיתים יבשה (יבוש בהקפאה) בריכוזים שונים על נעכלות חומר יבש במבחנה של מנה המורכבת ממזון גס ותערובת פיטום ביחס 1:1 (על בסיס חומר יבש).

טיפול	מנה לבד	מנה + 0.5%	מנה + 1%	מנה + 2%
נעכלות של חומר יבש	68.7^{a}	64.8^{b}	60.9^{c}	53.7^{d}

^{a,b,c,d} ממוצעים עם אות שונה בשורה נבדלים ($P< 0.05$).

4.1 ניסוי בעיזים יבשות:

ניסוי זה בוצע בשש עיזים יבשות על מנת לבדוק השפעת ריכוזים שונים במנה של גפת זיתים (0,0.5,5,10%) על בסיס חומר יבש. הניסוי נמשך 45 ימים כאשר כל תקופת ניסוי נמשכה 15 ימים. דגימות דם נלקחו מוריד הצוואר ביום האחרון לכל תקופת ניסוי. בניסוי זה הופרדו הפלזמות ונאספו כדוריות דם אדומות. בפזלמה נבדק הכשר האנטיאוקסידנטי הכללי ובכדוריות הדם האדומות נבדק ריכוז הגולתיון המחומצן והמחוזר והיחס בינהם. המטרה היתה לבדוק האם יש השפעה ישירה או עקיפה על הגלותיון המעורב בתהליכים אנטיאוקסידנטים. בניסוי זה לא נמדדה השפעה על כשר האנטיאוקסידנטי בפלזה של עיזים בטיפולים השונים. גרף מס' 2 מראה

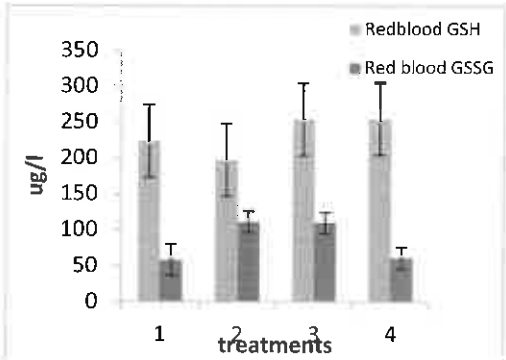


Figure 2. Effect of olive oil cake supplements on erythrocytes GSH and GSSG concentration of dry goat. (1= control, 2=0.5% OOC, , 3= 5% OOC and 4= 10% OOC supplement)

השפעת הטיפול על ריכוז גלותטיון המחומצן והמחוזר. היתה השפעה מובהקת של הטיפול על ריכוז גלותטיון המחוזר (GSH) והיתה הנמוכה ביותר בטיפול עם 0.5% תוספת גפת ואילו הגבוה ביותר היה בטיפול 10% ($P< 0.05$). מאידך, ריכוז הגלותטיון המחומצן (GSSG) היה נמוך ביותר בטיפולים 0% ו-10% ($P<0.05$). בהתאם לכך היחס GSH:GSSG היה גבוה יותר בקבוצת הביקורת וטיפול 10%.

4.2. ניסוי בעזים חולבות:

ניסוי התבצע על עיזים חולבות מיד לאחר ההמלטה ועד 90 ימים. מטרת ניסוי זה לבדוק השפעת התוספת בריכוז מינמאלי של 0.5% על כשר החימצוני של נוזלי הדם, החלב ומצב בריאותי.

בניסוי זה לא היתה השפעה על ממוצע צריכת המזון הקבוצתית (1.65 לעומת 1.85 ק"ג/ יום בקבוצת הביקורת לעומת הטיפול). אבל גרף מס' 2 מלמד במהלך תקופת הניסוי היתה עליה לכאורה (לא בוצע ניתוח סטטיסטי על צריכות קבוצתיות) בצריכת המזון במהלך הניסוי לטובת קבוצת הטיפול. היתה השפעה מובהקת על תנובות החלב היחסית היומיות של העיזים לטבת הביקורת ($P< 0.05$). בגלל ההבדלים בתנובות החלב שהתגלו בשבועיים הראשוניים במהלך הניסוי הוחלט ליחס את שאר התקופה לשבועיים הנ"ל. בחישוב הנ"ל נתגלה שקבוצת הביקורת הניבה 165% ליום חלב בהשוואה ל-141% בקבוצת הטיפול. כמו כן, היתה השפעה מובהקת על הרכב החלב בתכולת השומן והלקטוז (טבלה מס' 3).

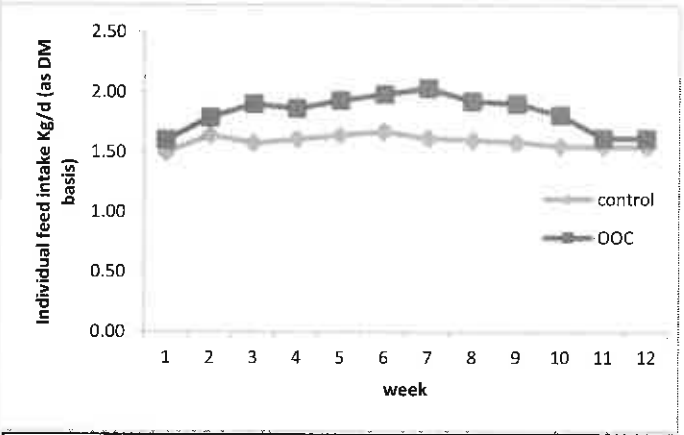


Fig. 2. Apparent average of individual feed intake per day (on DM basis)

טבלה מס' 3. תכולת רכיבי החלב בטיפולים השונים.

Milk quality parameters	Control	OOC supplement
Fat %	3.43 ± 0.169 [b]	3.96 ± 0.127 [a]
Protein %	3.13 ± 0.058	3.18 ± 0.043
Lactose%	4.52 ± 0.039 [a]	4.22 ± 0.029 [b]
Urea %	0.05 ± 0.001	0.043 ± 0.001

a, b ממוצעים בשורה עם אות שונה נבדלו ($P< 0.05$).

טבלה מס' 4 מתארת השפעת הטיפול על הכשר הכללי של כשר אנטיאוקסידנטי של חלב ופלזמה. לא נמצא הבדל מובהק בחלב מאידך, בפזמה היה הבדל מובהק ($P< 0.05$) בכשר האנטי חימצוני לטובת טיפול הביקורת.

טבלה מס' 4. השפעת הטיפול על כשר אנטיאוקסידנטי כללי של חלב ובפלזמה בעיזים.

Treatments	Mean milk TEAC (µM)	Mean Plasma TEAC (µM)	Mean erythrocytes TEAC (µM)
Control	21.80 ± 0.4	29.93 ± 0.3 [a]	41.47±0.5
OOC supplement	21.79 ± 0.3	27.99 ± 0.4 [b]	37.40±0.4

a, b ממוצעים בעמודה עם אות שונה נבדלו ($P< 0.05$).

5. דיון ומסקנות

תוצאות המחקר מראות שלגפת נטולת חרצנים כמות שמן מנימאלית כאשר פרופיל השומנים דומה לשמן זית. הגפת מכילה כמות לא מבוטלת של "רעלנים" המשפיעים בצורה ניכרת על פעילות חיידקי הכרס במבחנה. המסכנה המתבקשת מניסוי המבחנה שצריך להיות זהירים במתן הגפת כתוסף, והתוצאות מראות שריכוז 0.5% של גפת כמות שהיא על בסיס חומר יבש במנה מביאה לירידה מתונה יחסית בנעכלות אנרגיה.

תוצאות הניסוי עם העיזים החולבות מראות עליה בצריכת המזון בטיפול עם הגפת ברמת 0.5% . כנראה הסיבה העיקרית לכך היא הפגיעה בנעכלות המנה הכללית ומצד שני כנראה לטעימות הגפת יש השפעה על העליה בצריכת המזון. מטרה נוספת בניסיים עם העיזים היתה לבדוק השפעת הגפת כתוסף משפר את כשר האנטי חימצוני הן של הפלזמה והן של החלב. לאחרונה תוספים ממקורות צמחיים תופסים מקום ראשון כתוספי מזון לשיפור מצב הבריאותי הקשור ליכולת שלהם לשפר ולהשפיע על מאזן והמצב האנטי חימצוני הכללי בגוף (Yordi et al., 2012). כאמור עץ הזית כולל העלים, הפרי, גפת והשמן מכילים חומרים טבעיים בריכוזים גבוהים יחסית הנמנים למשפחת האנטיאוקסיטנדים החזקים ביותר. לכן, הנחת המחקר היתה שתוספת מינמאלית של הגפת תשפיע ותשפר את מעמד הכשר האנטי חימצוני בבעלי חיים מניבים. בעל חיים יצרני חשוף באופן תמידי לחומרים מחמצנים כתוצאה מהעקה הפיזיולוגית שהגוף חווה בגלל רמת הייצרנות הגבוה. בניסוי הנ:ל עם עיזים חולבות לא התקבלו תוצאות מנוגדות לצפוי בכך שכשר האנטיאוקסידנטי הכללי בפלזמה של העיזים וכדוריות הדם האדומות היה נמוך בקבוצת הביקורת לעומת הטיפול. ובניסוי השני שבוצע בעיזים חולבות ריכוזי הגלותטיון המחוזר, המחומצן (והכללי) והיחס ביניהם היה מושפע מהטיפול. מאידך, ריכוזי GSH ו-GSSG בפלזמה היה דומה בשני הטיפולים. ריכוז ה-GSH בכדוריות הדם האדומות היה נמוך ביותר בטיפול 0.5% יחסית לשאר הטיפולים. למיטב ידיעתנו לא בוצעו ניסויים בעבר על יכולת הגפת על כשר האנטיאוקסיטנדי בעיזים חולבות מאידך, בוצעו ניסויים שבדקו את השפעתם של תוספים אחרים ממקור צמחי העשירים

בתרכובות פוליפינולית, מנירלים (Se), ויטמינים שונים (E,A,C) בעיזים, כבשים ובני בקר. אחד הגורמים שהוצע להצלחת פעילות התוסף האנטי חימצוני הוא זמינותו הביולוגית באתר הפעילות (Niki and Noguchi, 2000). ההסבר הסביר לתוצאות שקיבלנו במחקר הנוכחי יכול להיות דומה להשפעת הפלבונואידים כאנטיאוקסיטנד. בפעלות האנטי אוקסידנט כסופח רדיקלים חופשיים נוצר רדיקל חופשי של האנטיאוקסידנט עצמו (פלבנואיד). הקומפלקס הנ"ל בעצמו נקשר ל-GSH ואיבוד החלבון (Boots et al., 2003, Moskaug et al., 2005, Boots et al., 2007). בנוסף לכך, פלבונאידים יכולים לעבור חמצון עצמי ותוצרי החמצון הנ"ל יכולים להגיב עם גלותטיון ולהוריד את הריכוז שלו (Kessler et al., 2003, Moskaug et al., 2005). המחברים ייחסו את ההשפעה הנ"ל כמתווכחת בתוך המטיכנדריה שמביא לעליה בריכוז מימין פריקסיד ואניון סור אוקסידי. בדומה למסקנה הזאת דווח ש-quercetin ו-myricitin גורמים לתעוקה נשמתית במטכנדריה (Hodnick et al., 1986). במחקר אחר גילו שתרכובות פינוליות כמו quercetin, fisetin, myricetin, morin נקשרים לאלבומין ובך פעילותם נפגעת ובמקום הפעילות הצפויה לאנטיאוקסידנטיות מנוטרלת (Smith et al., 1992). לכן, ניתן להסיק שמעבר לחשיבות של ריכוז האנטיאוקסיטנד במנה ישנה חשיבות עליונה לזמינות הביולוגית של הרכיב בפלזמה או באתר הפעילות שלו. בניסוי הנוכחי הכשר האנטי אוקסידנטי הנמוך ביותר הן בפלזמה והן בכדוריות הדם האדומות בעיזים היבשות ופעילות גלותטיון בכדרויות בחולבות התקבל בריכוז 0.5% של הגפת במנה. ניתן להסיק שתרכובות פינוליות בגפת פעילותם נחסמה בגלל חוסר הזמניות הביולוגית שלהם. מאידך, ניסויים נוספים רצוי שיבוצעו על מנת לאושש את המסקנה הזו.

6. רשימת ספרות מצוטטת

Alburquerque, J. A., J. Gonzalvez, D. Garcia, and J. Cegarra. 2004. Agrochemical characterisation of "alperujo", a solid by-product of the two-phase centrifugation method for olive oil extraction. Bioresour Technol 91(2):195-200.

Benitez, E., H. Sainz, and R. Nogales. 2005. Hydrolytic enzyme activities of extracted humic substances during the vermicomposting of a lignocellulosic olive waste. Bioresour Technol 96(7):785-790.

Boots, A. W., N. Kubben, G. R. M. M. Haenen, and A. Bast. 2003. Oxidized quercetin reacts with thiols rather than with ascorbate: implication for quercetin supplementation. Biochem Bioph Res Co 308(3):560-565.

Boots, A. W., H. Li, R. P. F. Schins, R. Duffin, J. W. M. Heemskerk, A. Bast, and G. R. M. M. Haenen. 2007. The quercetin paradox. Toxicol Appl Pharm 222(1):89-96.

Brozzoli, V., S. Bartocci, S. Terramoccia, G. Contע, F. Federici, A. D'Annibale, and M. Petruccioli. 2010. Stoned olive pomace fermentation with Pleurotus species and its evaluation as a possible animal feed. Enzyme and Microbial Technology 46(3-4):223-228.
Cert, A., W. Moreda, and M. C. Perez-Camino. 2000. Chromatographic analysis of minor constituents in vegetable oils. J Chromatogr A 881(1-2):131-148.
Hodnick, W. F., F. S. Kung, W. J. Roettger, C. W. Bohmont, and R. S. Pardini. 1986. Inhibition of Mitochondrial Respiration and Production of Toxic Oxygen Radicals by Flavonoids - a Structure-Activity Study. Biochem Pharmacol 35(14):2345-2357.
Katan, M. B., S. M. Grundy, P. Jones, M. Law, T. Miettinen, and R. Paoletti. 2003. Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. Mayo Clin Proc 78(8):965-978.
Kessler, M., G. Ubeaud, and L. Jung. 2003. Anti- and pro-oxidant activity of rutin and quercetin derivatives. J Pharm Pharmacol 55(1):131-142.
Khosravifar, O., N. Maheri-Sis, H. Aghdam-Shahriar, R. Salamat-Doost, and A.-R. Baradaran-Hasanzadeh. 2008. Study of the Effect of Saccharomyces cerevisiae on Nutritional Value of Exhausted Dry Olive Cake Using In vitro Gas Production Technique. J Anim Vet Adv 7(12):1589-1593.
Molina Alcaide, E., D. Yסבez Ruiz, A. Moumen, and I. Martכn Garcכa. 2003. Chemical composition and nitrogen availability for goats and sheep of some olive by-products. Small Ruminant Research 49(3):329-336.
Morillo, J. A., B. Antizar-Ladislao, M. Monteoliva-Sanchez, A. Ramos-Cormenzana, and N. J. Russell. 2009. Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes. Appl Microbiol Biotechnol 82(1):25-39.
Moskaug, J. O., H. Carlsen, M. C. W. Myhrstad, and R. Blomhoff. 2005. Polyphenols and glutathione synthesis regulation. American Journal of Clinical Nutrition 81(1):277s-283s.
Niki, E. and N. Noguchi. 2000. Evaluation of antioxidant capacity. What capacity is being measured by which method? Iubmb Life 50(4-5):323-329.
Omar, S. H. 2010. Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects. Sci Pharm 78(2):133-154.
Owen, R. W., W. Mier, A. Giacosa, W. E. Hull, B. Spiegelhalder, and H. Bartsch. 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignansand squalene. Food Chem Toxicol 38(8):647-659.
Rahman, I., K. Aruna, and S. K. Biswas. 2007. Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulfide levels using enzymatic recycling method. Nature Protocols 1:3159+.
Shabtay, A., H. Eitam, Y. Tadmor, A. Orlov, A. Meir, P. Weinberg, Z. G. Weinberg, Y. Chen, A. Brosh, I. Izhaki, and Z. Kerem. 2008. Nutritive and antioxidative potential of fresh and stored pomegranate industrial byproduct as a novel beef cattle feed. J Agric Food Chem 56(21):10063-10070.
Shabtay, A., Y. Hadar, H. Eitam, A. Brosh, A. Orlov, Y. Tadmor, I. Izhaki, and Z. Kerem. 2009. The potential of Pleurotus-treated olive mill solid waste as cattle feed. Bioresource Technology 100(24):6457-6464.
Smith, C., B. Halliwell, and O. I. Aruoma. 1992. Protection by Albumin against the Prooxidant Actions of Phenolic Dietary-Components. Food and Chemical Toxicology 30(6):483-489.
Warleta, F., M. Campos, Y. Allouche, C. Sבnchez-Quesada, J. Ruiz-Mora, G. Beltrבn, and J. J. Gaforio. 2010. Squalene protects against oxidative DNA damage in MCF10A human mammary epithelial cells but not in MCF7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells. Food and Chemical Toxicology 48(4):1092-1100.
Weinberg, Z. G., Y. Chen, and P. Weinberg. 2008. Ensiling olive cake with and without molasses for ruminant feeding. Bioresour Technol 99(6):1526-1529.

Yordi, E. G., E. M. Pérez, M. J. Matos, and E. U. Villares. 2012. Antioxidant and pro-oxidant effects of polyphenolic compounds and structure-activity relationship evidence. Nutrition, Well-Being and Health. Intech.