

דוח לתכנית מחקר 817-0056-09

אבקת ארטישוק ומיצויי ארטישוק כמקור למזון פונקציונלי ול- Nutraceuticals לטיפול  
בהיפרגליקמיה ובהיפרכולסטרמיה

**Artichoke and Artichoke Extracts as Functional Foods/Nutraceuticals  
For Hyperglycemia and Hypercholesterolemia Treatment**

מוגש לקרן מדען הראשי במשרד החקלאות על ידי

זכריה מדר, הפקולטה לחקלאות  
צבי וינברג, מנהל המחקר החקלאי

Zecharia Madar, Faculty of Agriculture Rehovot 76100. [madar@agri.huji.ac.il](mailto:madar@agri.huji.ac.il)

Zwi G. Weinberg, Volcani Center Bet Dagan 50250 [zgw@agri.gov.il](mailto:zgw@agri.gov.il)

אפריל 2010

ניסן תש"ע

הממצאים בדוח זה הנם תוצאות נסויים.

הניסויים מהווים המלצות לחקלאים: לא

חתימת החוקר

## **תקציר לדו"ח המסכם לתכנית המחקר 817-0056-09 בנושא**

### **אבקת ארטישוק ומיצויי ארטישוק כמקור למזון פונקציונלי ול- Nutraceuticals**

#### **לטיפול בהיפוגליקמיה ובהיפוכולסטרמיה**

מטרת העבודה הייתה לבחון את ההשפעות התזונתיות והבריאותיות של אבקת תחמיצי פרי הארטישוק ומיצויים ממנו. העבודה התמקדה בתחמיצי לבבות ארטישוק. טיפולי ההחמצה כללו בקורת (ללא תוספות) וטיפול בתרבית של *Lactobacillus plantarum* MTD1 בשילוב עם אנזים צלולוליטי. לאחר תקופת אחסון בטמפרטורת החדר התחמיצים יובשו בהקפאה והאבקה שימשה להלעטת חיות: חולדות ב- 2008 ואוגרים ב- 2009. בדיקות הסרום והכבד של החיות הצביעו על השפעת אבקות תחמיצי לבבות הארטישוק בכיוון הפחתת שומנים, כולסטרול וכן גלוקוז בדם ושומנים וכולסטרול בכבד בהשוואה לדיאטת בקורת תקנית שלא כללה מוצרי ארטישוק. באוגרים רמות הכולסטרול והטריגליצרידים בסרום של חיות שהולעטו בארטישוק היו בסביבות 150 מ"ג/ד"ל בהשוואה ל- 280 מ"ג/ד"ל בסרום חיות שהוזנו בדיאטת הבקורת. ביחס ל- HDL התוצאות היו 90 לעומת 150 מ"ג/ד"ל, בהתאמה. החמצה עשויה לשמש חלופה לשימור לבבות הארטישוק על פני הקפאה; לא נמצא הבדל בין השפעת תחמיצי הבקורת ובין התחמיצים שטופלו בתרבית החיידקים והאנזים. ניסוי זה מוביל אותנו למסקנה חד משמעית, ארטישוק יכול להוות אמצעי עזר לאיזון פרופיל כולסטרול ושומן.

## הצגת הבעיה

מזונות פונקציונליים הינם מוצרים עם יתרונות רפואיים מוכחים ובעלי פוטנציאל להשפיע על בריאות הציבור באופן משמעותי. אולם, על מנת לשווק מוצרים אלו זה צריך הוכחות מדעיות מספיקות הדורשות מאמץ מחקרי משמעותי (1). Nutraceutical, מושג שנגזר מהביטוי של תזונה פארמצבטית (nutritional pharmaceutical), מוגדר כחומר שיכול להיחשב כמזון או חלק ממזון שיש לו יתרונות בריאותיים או רפואיים. ליתר דיוק, חומרים נוטרצבטיים הינם מרכיבים טבעיים במזון או צורות ברות עיכול אחרות שנקבע כי הם תורמים למניעה או לטיפול של מחלה אחת או יותר או משפרים את הביצועים הפיזיולוגיים (2). שוק מוצרי המזון הפונקציונאלי וה- Nutraceuticals הולך ומתרחב ומוצרים כאלה אינם חדשים ורבים מצויים בשימוש זה כ-20 שנים.

החיפוש אחר מקורות חדשים של מזונות פונקציונליים ו- Nutraceuticals בעלי פוטנציאל בריאות מתקיים כל הזמן. מועמד מבטיח אחד שאנו מאמינים כי יהיו לו יתרונות בריאותיים משמעותיים הוא הארטישוק. הארטישוק, *Cynara Scolymus*, הוא צמח עשבוני רב שנתי הנפוץ בצפון אמריקה, האיים הקנריים ודרום אירופה כשמדינות האיזור הזה הן היצרניות המובילות בעולם. עלי ארטישוק שימשו בתרופות צמחיות עתיקות לטיפול במיגוון של מחלות; הוא היה בשימוש רב באירופה בעיקר בטיפול בקשיי עיכול. למעשה הוא בעל השפעה מתועדת על מיצי המרה, הן במתנדבים בריאים והן האנשים הסובלים מהפרעות עיכול לא ספציפיות (3). בגרמניה הוא משמש כיום בבעיות של עיכול שומנים (4). לאחרונה המחקר התמקד במיגוון רחב של פעילויות של מיצי עלי ארטישוק: נוגדת חימצון, נוגדת HIV, הגנה על הכבד, מגבירה מיצי מרה ומפחיתה רמת ליפידים (5, 6). Zapolska-Downer ועמיתיהם (7) דיווחו כי מיצי ארטישוק הוא בעל מאפיינים בולטים כנגד עקה חימצונית המושרית על ידי מתווכים דלקתיים ו- LDL מחומצן בתרביות תאי אנדותל ותאי שריר. הוצע שלפחות חלק מהשפעות אלה הינן בשל פעילות נוגדת חמצון של המקטע הפנולי המצוי בארטישוק ויכולתו למנוע חמצון שומנים (8). הרכיבים הכימיים של ארטישוק, במיוחד בעלים, עשירים בתרכובות פנוליות כגון חומצות mono/dicaffeoylquinic ופלבנואידים, אשר מוצו, בודדו וזוהו (9). בנוסף, נערכו ניסויים in-vitro אשר מדדו תוצרי (MDA) malondialdehyde כדי להעריך את ההשפעות של מיצי ארטישוק על LDL אנושי. הדגרה של LDL עם מיצי ארטישוק ונחושת בו זמנית במשך 8 שעות הקטינה את מידת החמצון של LDL.

נבדקו גם מגוון פעילויות פרמקולוגיות של מיצי ארטישוק. בחולדות נמצא כי מיצי ארטישוק הגביר זרימה של מיצי מרה והפחית סינתזת כולסטרול בכבד (10, 11). במחקרים בבני אדם, ניסויים רנדומליים מבוקרים הראו השפעה היפוכולסטרולמית מתונה של מיצי ארטישוק (12). Lupattelli ועמיתיו (13) הבחינו כי באנשים היפרליפדימים שצרכו מיץ שמוצה מעלי ארטישוק טריים חל שיפור בזרימת דם וכן בגורמים המעורבים בתפקוד האנדותרלי זאת בנוסף לשיפור בפרופיל השומני. ארטישוק בר (*C. cardunculus*), צמח שנצרך רבות באיזורים נבחרים באגן הים התיכון (14) משפר תנועתיות השרירים בטבעות אאורטיות שבודדו מחולדות ומשקם חלקית אך במידה מובהקת את התגובתיות של כלי

דם (15, 16). המחקר של Zhu ועמיתיו (17) מציע יישום פוטנציאלי חדש בעלי ארטישוק בר בטיפול בזיהומים פטרייתיים. הם מציגים גם פעילות אנטימיקרוביאלית של מיצויי ארטישוק.

יחד עם פוטנציאל השימוש בו כנוגד חמצון, לארטישוק עשוי להיות פוטנציאל תרפויטי בטיפול בסוכרת. קיימת הסכמה רחבה על כך שהאתגר הגדול ביותר בניהול הטיפול בחולים סוכרתיים הוא בקרה על רמות הגליקוז לאורך היממה. בנוסף, הפרגליקמיה והיפראינסולינמיה שלאחר הארוחה הינן גורמי סיכון להתפתחות סיבוכים מקרו-וסקולריים בחולי סוכרת. הגם שיש מספר תרופות שמטרתן עיכוב של אנזימי הדרוליזה של פחמימות והן מצויות בשימוש קליני, חולי סוכרת עלולים לפתח תנגודת למשטרי הטיפול הנוכחיים. לפיכך, חשוב לחפש תרכובות נוספות בעלות מנגנון פעילות דומה. פלאבונואידים, הנפוצים בהרחבה בממלכת הצומח ומרכיבים את הקבוצה הגדולה ביותר של פולפנולים צמחיים, מצויים בכמויות ניכרות בארטישוק ועשויים לתרום לבקרה על רמות הגלוקוז בדם. דווח כי לוטאלין, פלבנואיד ידוע המצוי בארטישוק, הצליח לעכב את האנזים אלפא-גלוקוזידאז (18). בנוסף, בארטישוק כמות גדולה של סיבים תזונתיים מסיסים, הידועים ביכולתם לשפר את המודולציה של תגובת אינסולין וגלוקוז לאחר הארוחה.

בעבודה הנוכחית בחנו טכנולוגיה חלופית להכנת אבקת ארטישוק ולמיצוי רכיבים פונקציונליים/תומכי בריאות מארטישוק ששונה מהמיצוי הקונבנציונלי במיסיים אורגניים. טכנולוגיה זו מבוססת על החמצת חומר הצמחי בשילוב עם אנזימים מפרקי דופן תא צמחי. החמצה הינה שיטת שימור של צמחי מספוא לחים שמבוססת על תסיסה אנאירובית של חיידקי חומצת החלב. במהלך התסיסה חיידקים אלה הופכים את הסוכרים המסיסים לחומצות אורגניות, בעיקר לחומצת חלב. כתוצאה מכך ה-pH יורד והתחמיץ נשמר כל עוד אוויר אינו חודר פנימה. בתהליך החמצת גידולי מספוא ניתן להוסיף תרבויות חיידקי חומצת חלב לזירוז תסיסת ההחמצה ואנזימים מפרקי דופן תא הכוללים צלולאזות, המיצלות לאזות ופקטינאזות. ניתן להוסיף את האנזימים הנ"ל לצמחי מספוא בעלי תכולת סוכרים נמוכה בעת הכנת התחמיץ. פעולת האנזימים משחררת מדופן התא סוכרים שזמינים לתסיסת ההחמצה ובד בבד משפרת את נעילות התחמיץ במעלי הגירה, עקב הפירוק החלקי של דופן התא (19). האנזימים מוספים לצמחי מספוא במינון 0.025-0.050% מהירק הלח.

ניתן ליישם את ההחמצה בשילוב עם אנזימים כאלה גם למטרות מיצוי רכיבים מועילים מצמחים. היתרונות שגלומים בשיטה המוצעת כוללים:

1. הגדלת הנצולת של החומרים שממוצים ע"י פירוק חלקי של דופן התא, מה שמקל על המיצוי.
  2. המיצוי יכול להתבצע בתנאים מתונים, ללא שימוש בחום או במיסיים אורגניים שעלולים להרוס את חומרי המטרה או את פעילותם.
  3. בתהליך ההחמצה ה-pH שמתקבל (4.5-5.0) הינו אופטימלי לפעילות האנזימים הנ"ל.
  4. ההחמצה מאפשרת את שימור החומר הצמחי לזמן ממושך כך שאין צורך המיצוי מיידי.
- עבודות קודמות הצביעו על היעילות של הטכנולוגיה המוצעת: מיצוי חלבון וכלורופיל מאספסת עלה ב-160 ו-240%, בהתאמה, יחסית למיצוי ללא החמצה כזאת (20, 21). כמו כן כמות הפוליפנולים שמוצו ממרווה ורוזמארין עלתה ב-100 ו-20% בהתאמה יחסית לבקורת (22). פיתוח נוסף של התהליך כולל שימוש בתכשיר גלמי של האנזימים שמוצר ע"י גידול פטריות מתאימות שמפרישות אותם במצע מתאים

שכולל את צמח המטרה. פטריות כאלה (*Trichoderma reesei*, *Gliocladium spp.*) נחשבות לבטוחות לשימוש. האנזים הגלמי זול בהרבה לעומת אנזים מטהר (21).

### **מטרות המחקר:**

המטרה הכוללת של המחקר המוצע הייתה לבסס באופן מדעי את הפונקציונליות של ארטישוק ומיצויו, כמקור לחומרים טבעיים תומכי בריאות בבני אדם.

### **מטרות המשנה כללו:**

1. להעריך את ההשפעות ההיפוגליקמיות וההיפו-כולסטרולמיות של אבקות ארטישוק (סיבים תזונתיים).
2. לאמץ גישה חדשה למיצוי תרכובות פעילות ביולוגית מארטישוק שמבוססת על החמצה בשילוב אנזימים מפרקי דופן תא, ללא שימוש בממסים אורגניים.
3. לבחון את התכונה נוגדת חימצון של הפוליפנולים המצויים בשפע בארטישוק ולבסס את השפעותיהם כמרכיבים היפוכולסטרולמיים וכאמצעי הגנה מפני חמצון LDL וליפידים.

## **מהלך העבודה**

### **מיצויים ותחמיצים**

בשנת המחקר הראשונה נבחנו תחמיצים שונים של ארטישוק שלם ושל לבבות ארטישוק בשילובים שונים ועם טיפולים שונים (תרבית חיידקים ואנזימים) וכן נוסו מיצויים שונים מלבבות ארטישוק באתנול עם או בלי מיצוי עוקב בהקסאן. בשנה השנייה והשלישית התמקדנו בהכנת אבקות מתחמיצי לבבות ארטישוק מוקפאים. בשנה השנייה התחמיצים הוכנו בצנצנות אטומות בנפח 1.5 ליטר. הלבבות המוקפאים הופשרו ונחתכו לרבעים ונדחסו לצנצנות, כ- 1 ק"ג בכל צנצנת. טיפולי ההחמצה כללו בקורת (ללא תוספות) והחמצה בתוספת תרבית חיידקי חומצת חלב (*Lactobacillus plantarum* MTD1 (Ecosyl, UK) במינון  $10^6$  חיידקים לגרם ארטישוק, ותערובת אנזימים מפרקי דופן התא (*Celluclast*, Novo, USA) במינון 1% מהמשקל. בשנה השנייה בוצעו שלושה ניסויי החמצה כאלה וכל טיפול הוכן בחמש חזרות. התחמיצים אוחסנו למשך 3-8 חודשים בטמפרטורת החדר. האבקות שהוכנו מהתחמיצים בתהליך ליפיליזציה שימשו בניסויי הזנה עם בעלי חיים. בשנה השלישית ההחמצות בוצעו בנפחים גדולים במיכלים אטומים בנפח 20 ליטרים (3 מיכלים לכל טיפול), והייבוש בהקפאה נערך במפעל צ'אם במירון. הבדיקות שנערכו על התחמיצים כללו קביעת חומר יבש, pH, חומצת חלב (בשיטה ספקטרופוטומטרית (22), ותוצרי תסיסה נדיפים (בגז כרומוגרף). ונערך מיצוי מימי לאבקות לקביעת תכולת פוליפ נולים. תכולת כלל הפוליפ נולים המסיסים נקבעה בשיטה ספקטרופוטומטרית עם ריאגנט *Folin Ciocalteu*. השיטה כוילה עם חומצה גאלית.

### **חיות ודיאטות**

בשנת המחקר השנייה נערך ניסוי עם בעלי חיים במטרה לבדוק את השפעת אבקות מתחמיצי לבבות ארטישוק על פרמטרים תזונתיים ובריאותיים. חולדות חולקו באופן אקראי ל-4 קבוצות והוזנו בדיאטות

הבאות: 1. ביקורת שהכילה 7% סיבים שמקורם צלולוז (טבלה 1). 2. דיאטה ביקורת + כולסטרול (1%), 3. 7% סיבים ממקור תחמיץ לבבות בקורת (לא מטופל)+כולסטרול. 4. 7% סיב ממקור תחמיץ לבבות מטופל בתרבית והאנזים + כולסטרול. פרוט הדיאטות ניתן בטבלה מספר 1. החולדות הוחזקו על הדיאטות הספציפיות למשך 30 יום. נבדקו הפרמטרים הבאים: גלוקוז, טריגליצרידים, HDL, LDL וכולסטרול.

בשנת המחקר השלישית השתמשנו באוגרים. אוגרים בני 4 שבועות במשקל ממוצע של 90 גר, חולקו באופן אקראי ל-3 קבוצות. האוגרים הוזנו בדיאטות עשירות בכולסטרול - 0.3%. דיאטת הביקורת הכילה מזון סטנדרטי למכרסמים, מחברת הרלן. למזון הוסף כולסטרול 0.3 גר ל 100 גר. שתי הדיאטות האחרות, הכילו אותה כמות של כולסטרול. סיבים מצלולוז, המצויים בדיאטה הסטנדרטית, הוחלפו ב-10% אבקת ארטישוק עם ובלי טפול אנזימתי (ראה טבלה 1). החיות הוזנו במשך חדש בדיאטות הנ"ל, ללא הגבלה על כמות המזון והמים. החיות נשקלו פעם בשבוע. לאחר 30 יום הוכנסו החיות לצום של 16 שעות שבסיומו כל חיה הורדמה. נלקחה דוגמת דם, נשקל הכבד והועבר להקפאה בחנקן נוזלי. דוגמת הדם, עברה סרכוז ב 2000 g למשך 10 דקות הסרום נאסף והוקפא. דוגמאות הסרום נשלחו לבדיקה במעבדות אמריקן מדיקל הרצליה. הפרמטרים שנבדקו בסרום כללו: גלוקוז, טריגליצרידים כלל כולסטרול וHDL כולסטרול.

#### **קביעת כולסטרול ברקמת כבד**

הכולסטרול מוצה מהכבד בשיטה הבאה: דוגמת כבד במשקל ממוצע של 50 מ"ג, עברה הידרוליזה בסיסית ע"י 10% KOH בטמפ של 65°C לפרוק החלבונים וסיבון השומנים. לאחר מכן מוצה הכולסטרול ע"י פטרול אתר מספר פעמים. הפטרול אתר נודף תחת חנקן. כמות הכולסטרול שמוצתה, נמדדה ע"י הגבה עם ריאגנט צבע ספציפי לכולסטרול ( $\text{FeSO}_4$  מומס בחומצה אצטית) שהוסף לו 1 מל של חומצה גופריתנית. כמות הכולסטרול חושבה על פי עקומת סטנדרט שהכילה כמויות ידועות של כולסטרול. כמות הכולסטרול חושבה ל-1 גרם של כבד.

#### **בדיקת שומן בכבד**

דוגמת כבד במשקל ידוע עברה המגון עם ראגנט Folch אינקובציה למשך שעתיים וסרכוז. המיקטע התחתון שנאסף נודף. כמות החומר שנשארה לאחר הנידוף מהווה את המיקטע השומני. מיקטע זה נשקל וחושבה כמות השומן לגרם כבד.

**הניתוח הסטטיסטי** של המדדים הביוכימיים בסרום וכבד החיות כלל ניתוח שונות חד-כיווני ומבחן תחום מרובה שבוצע עם תכנת SAS.

## טבלה מס. 1. הרכב הדיאטות לניסוי עם חולדות (2008).

| כמות לק"ג         | ביקורת - צלולוז ללא כולסטרול | ביקורת - צלולוז + כולסטרול | סיב ארטישוק ללא טיפול+כולסטרול | סיב ארטישוק מטופל+כולסטרול |
|-------------------|------------------------------|----------------------------|--------------------------------|----------------------------|
| עמילן             | 457.7                        | 445.7                      | 445.7                          | 445.7                      |
| קזאין             | 140                          | 140                        | 140                            | 140                        |
| דקסטרוז           | 155                          | 155                        | 155                            | 155                        |
| סוכרוז            | 100                          | 100                        | 100                            | 100                        |
| BHT               | 0.008                        | 0.008                      | 0.008                          | 0.008                      |
| מינרלים*          | 35                           | 35                         | 35                             | 35                         |
| ויטמינים          | 10                           | 10                         | 10                             | 10                         |
| L-cystein         | 1.8                          | 1.8                        | 1.8                            | 1.8                        |
| כולין כלוריד      | 2.5                          | 2.5                        | 2.5                            | 2.5                        |
| כולסטרול          | -                            | 10                         | 10                             | 10                         |
| חומצה כולית       | -                            | 2                          | 2                              | 2                          |
| שמן תירס          | 40                           | 40                         | 40                             | 40                         |
| צלולוז            | 70                           | 70                         | -                              | -                          |
| ארטישוק ללא טיפול | -                            | -                          | 70                             | -                          |
| ארטישוק מטופל     | -                            | -                          | -                              | 70                         |

\* תערובת מוכנה של חברת AIN

## תוצאות ודיון

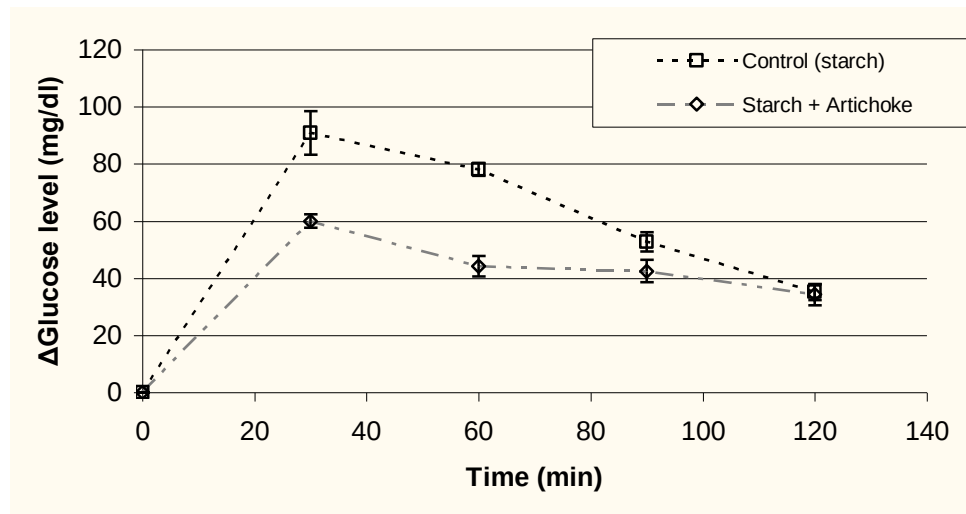
טבלה מס. 2. נותנת את הרכב אבקת תחמיצי לבבות הארטישוק. כפי שניתן לראות, ההרכב התזונתי היה שווה בין הבקורת והטיפול בתרבית והאנזים. ריכוז הסיבים התזונתיים בלבבות הארטישוק גבוה יותר בהשוואה לפרי השלם שמכיל כ- 40% סיבים (בחומר היבש), מהם כ- 10% סיבים מסיסים.

## טבלה 2. ערכים תזונתיים (באחוזים) של אבקת לבבות הארטישוק.

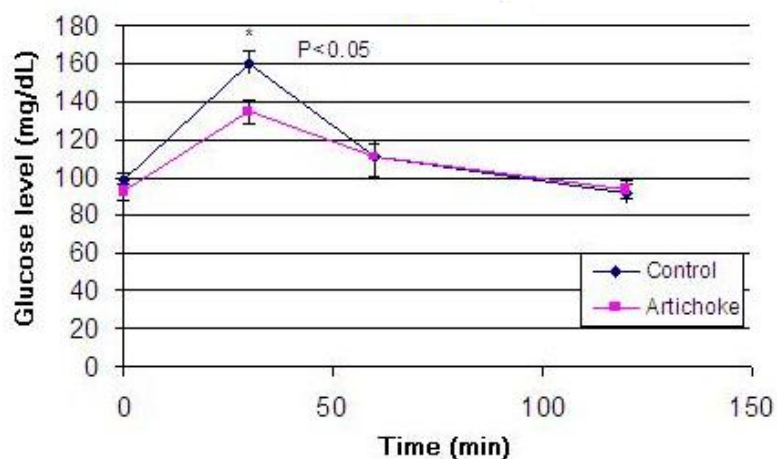
| סוג התחמיץ          | חלבון כללי | כלל פחמימות | שומן | סיבים תזונתיים |
|---------------------|------------|-------------|------|----------------|
| בקורת               | 13.14      | 73.9        | 1.8  | 60.9           |
| מטופל בתרבית ואנזים | 13.14      | 74.7        | 1.6  | 56.9           |

**אפקט היפוגליקמי בחולדות** (ניסוי הקדמי שהוצג בהצעה): הניסויים נערכו בחולדות בריאות, אשר הולעטו בתמיסת עמילן בנוכחות או היעדר אבקת ארטישוק כנ"ל (100 מגר'). התוצאות (איור מס. 1) מראות כי עקומת הגלוקוז הופחתה באופן משמעותי כאשר אבקת ארטישוק הוספה לתמיסת ההלעטה. ההרכב הייחודי של הארטישוק הוא כנראה האחראי לאפקט ההיפוגליקמי המושג, כאשר ארטישוק מוסף לתמיסת ההלעטה. התוצאות בבני אדם (איור מס. 2) הראו כי אבקת ארטישוק (10 גר'), אשר ניתנה לנבדקים בריאים יחד עם MTT (7 נבדקים) מיתנה את עקומות הגלוקוז לאחר הארוחה.

## איור מס. 1. ההשפעה ההיפוגליקמית של אבקת ארטישוק בחולדות

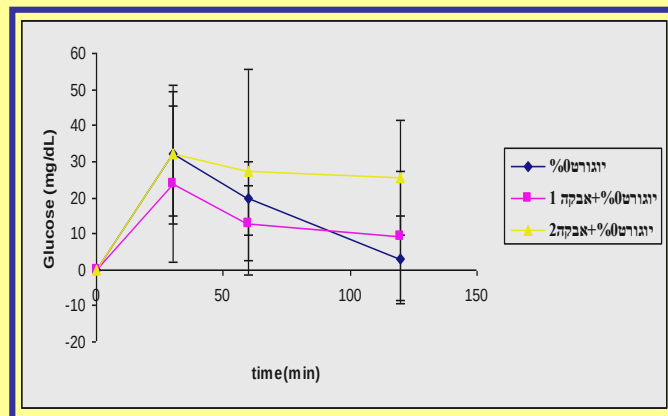


## איור מס. 2. ההשפעה ההיפוגליקמית של אבקת ארטישוק בבבני אדם.





**איור מס. 3.** השפעת אבקת ארטישוק ללא החמצה (אבקה 1) ואבקה מתחמיצי לבבות ארטישוק (אבקה 2) על רמות הגלוקוז בארוחת תבחין.



נצולת קבלת אבקה מתחמיצי לבבות ארטישוק אחרי ייבוש בהקפאה הייתה כ- 15% מהמשקל המקורי הלח. נצולת מיצויי אבקת הארטישוק באתנול ובהקסאן הייתה נמוכה מאוד (3 ו- 6% מארטישוק שלם ומלבבות ארטישוק בהתאמה. בגלל הנצולת הנמוכה של המיצויים במיסים האורגניים אשר לא הספיקה לניסויים עם בעלי חיים במידה סבירה (וממילא לא תתאפשר התכנות יישומית) הוחלט לזנוח את הכיוון הזה במחקר.

תהליך ההחמצה של ארטישוק שלם ולבבות היה תקין ערך ה- pH של תחמיץ לבבות ארטישוק (בקורת ומטופלים באנזים ותרביית חיידקים) לאחר 8 חודשי אחסון היה 3.7 (ערך ה- pH של לבבות טריים היה בסביבות 4.7). הפסדי המשקל בזמן ההחמצה היו מזעריים (0.6%) ובתחמיץ הופרדו כ- 300 מ"ל נגר. המרקם של לבבות הארטישוק הפך למשחתי. ערכי ה- pH של תחמיצי הירק השלם היו 3.4-3.8 כאשר הערך הנמוך ביותר היה לטיפול המשולב (אנזים+חיידק).

בהמשך המחקר הוחלט להתמקד בתחמיצי לבבות ארטישוק שהם החלק האכיל. תכולת הפוליפ נולים בלבבות לא מוחמצים הייתה 17, בתחמיצי לבבות בקורת – 19 ובתחמיצי לבבות שטופלו בתרביית החיידק ובאנזים – 44 מ"ג לגרם חומר יבש.

מתן אבקת לבבות ארטישוק ללא החמצה לאנשים בריאים במבחן של ארוחת תבחין הורידה את רמות הגלוקוז, בעוד שזו שעברה טיפול לא הייתה השפעה (איור מספר 3). ממצא זה מעיד על החשיבות של החומרים שהורחקו במהלך ההחמצה.

הרכב תחמיצי לבבות הארטישוק בניסויים שנערכו בשנת 2008 מסוכמות בטבלה מס. 4. תכולת החומר היבש של לבבות הארטישוק הטריים  $16.7 \pm 0.3$  % וערך ה-pH שלהם היה כ-4.6. תכולת החומר היבש לא השתנתה בהרבה במהלך ההחמצה והיא מתאימה לנצולת של הייבוש בהקפאה בעת הכנת האבקה. בעת ההחמצה ה-pH ירד וערכי ה-pH של התחמיצים המטופלים היו בד"כ נמוכים מאלה של תחמיצי הבקורת (בממוצע 3.4, 3.6, בהתאמה), והם יצרו נפחים יותר גדולים של נגר (157, 97 מ"ל בממוצע, בהתאמה). תכולת תוצרי התסיסה (מבוטאת כאחוז בח"י) בתחמיצי לבבות הארטישוק גבוהה בהרבה בהשוואה לזו של תחמיצי מספוא רגיל בגלל החישוב המתמטי שמתחשב בתכולה הנמוכה של החומר היבש. פרופיל התסיסה מצביע על תכולה יותר גבוהה של חומצת חומץ (אצטית) בתחמיצי הבקורת (בממוצע 3.8% בח"י) בהשוואה לתחמיצים המטופלים (2.2% בח"י), מה שהיה צפוי כיוון שזן תרבית חיידקי חומצת החלב שהוסף היה מסוג הומו-פרמנטטיבי. בניסוי הראשון תחמיצי הבקורת הכילו גם מעט חומצת חמאה (בוטירית) (0.4% בחומר היבש). התכולה הגבוהה החריגה של אתנול בתחמיצים המטופלים בניסוי 1 אינה מובנת, יתכן שהתפתחו בהם שמרים. הניתוח הסטטיסטי הצביע על הבדלים מובהקים בין הטיפולים ( $P < 0.05$ ) ביחס ל-pH, נפחי הנגר והחומצה האצטית.

הפוליפנולים שלהם תכונות של נוגדי חמצון, שמשו בניסויים אלה כמדד ליעילות הטיפול בתרבית ובאנזים להקל על מיצוי חומרים מועילים מאבקות הארטישוק באמצעות הידרוליזה חלקית של דופן התאים. תכולת הפוליפנולים באבקות שהתקבלו מהתחמיצים המטופלים הייתה דומה לזו (ללא הבדל מובהק) שבתחמיצי הבקורת, כלומר שהטיפול באנזים לא שינה את תכונות לבבות הארטישוק. הסיבה לכך היא שהלבבות ממילא רכים ודפנות התאים אינם מהווים מכשול למיצוי. הנגר משני הטיפולים הכיל כ-13 מ"ג/ג' ח"י של פוליפנולים, כמו בתחמיצים.

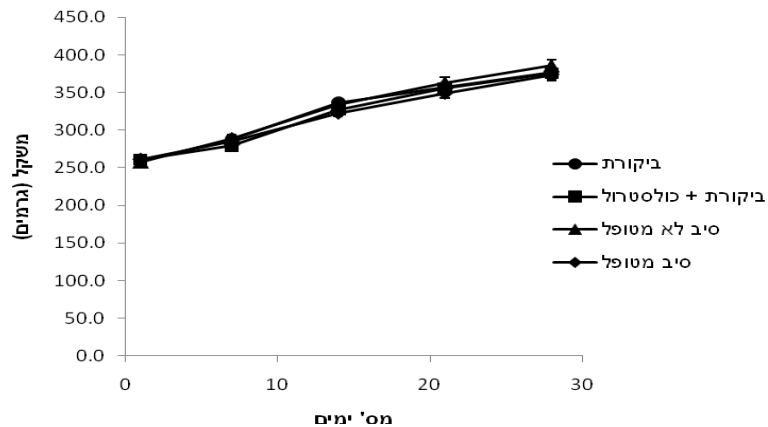
מכל טיפול של תחמיץ במשקל כולל של 5 ק"ג התקבלו לבסוף לאחר הייבוש בהקפאה כ-340 ג' אבקה. החומר היבש שנותר לאחר הייבוש בהקפאה של הנגר היה צמיג מאוד, מועט ולא קל לעבודה (לא התקבלה ממנו אבקה בטחינה).

**טבלה מס. 4.** תוצאות בדיקות תחמיצי לבבות ארטישוק (2008). תוצרי התסיסה מבטאות כ% בח"י.

| הניסוי | הטיפול              | % חומר יבש     | pH            | חומצת חלב      | אתנול         | חומצת חומץ    | נגר במ"ל     | תכולת פוליפנולים (מ"ג/ג' ח"י) |
|--------|---------------------|----------------|---------------|----------------|---------------|---------------|--------------|-------------------------------|
| 1      | בקורת ללא תוספות    | $17.0 \pm 0.5$ | $3.7 \pm 0.1$ | $12.6 \pm 2.4$ | $0.4 \pm 0.2$ | $3.4 \pm 0.6$ | $110 \pm 8$  | $11.4 \pm 1.7$                |
| 1      | טיפול בתרבית ואנזים | $15.5 \pm 0.3$ | $3.6 \pm 0.0$ | $12.7 \pm 2.7$ | $4.7 \pm 1.2$ | $2.3 \pm 0.4$ | $155 \pm 10$ | $13.2 \pm 0.8$                |
| 2      | בקורת ללא תוספות    | $15.0 \pm 0.3$ | $3.7 \pm 0.1$ | $19.0 \pm 1.0$ | $0.6 \pm 0.1$ | $5.1 \pm 0.3$ | $128 \pm 3$  | -                             |
| 3      | טיפול בתרבית ואנזים | $12.1 \pm 1.6$ | $3.7 \pm 0.0$ | $14.5 \pm 2.4$ | $0.1 \pm 0.3$ | $2.9 \pm 0.1$ | $197 \pm 25$ | -                             |
| 3      | בקורת ללא תוספות    | $13.3 \pm 1.5$ | $3.9 \pm 0.1$ | $15.9 \pm 1.7$ | $0.2 \pm 0.3$ | $3.9 \pm 1.0$ | $65 \pm 3$   | $16.2 \pm 0.6$                |
| 3      | טיפול בתרבית ואנזים | $16.1 \pm 1.1$ | $3.5 \pm 0.1$ | $15.7 \pm 2.4$ | $0.4 \pm 0.5$ | $1.9 \pm 0.2$ | $92 \pm 11$  | $14.2 \pm 1.1$                |

איור מס. 4 מתאר את השפעת הסיבים השונים בדיאטות על משקל החולדות. לא הייתה השפעה לסיבים על משקל גוף. התוצאות מרמזות שסיבים תזונתיים מסוג ארטישוק **לא** יכולים לשמש להורדת משקל. יחד עם זאת ראינו שמשקל הצואה של חולדות ללא הבדל אם הסיבים עברו טיפול אנזימים היה גבוה (נתונים לא הראו) בהשוואה לקבוצת הדיאטה מס' 1 (בקורת). זו כמובן הוכחה, שסיבים שמקורם מארטישוק יכולים לסייע לפעילות מערכת עיכול תקינה.

#### איור מס. 4. משקל החולדות במהלך הניסוי.



כאשר בוחנים את השפעת הסיבים עם או ללא טיפול על הפרמטים המטבוליים בסרום חולדות (טבלה מס. 5) לא נראה שהיה אפקט משמעותי לטיפול. יחד עם זאת, אבקת ארטישוק גרם לרמות נמוכות יחסית של כולסטרול, גלוקוז וכן LDL אך לא השיגו משמעות סטטיסטית. הסיבות לכך שלא התקבלו אפקטים משמעותיים לסיבים עם וללא טיפול נובעים כנראה מהסיבות הבאות: (א) השריית המודל של חיות היפרכולסטרוליות על ידי הזנה עם כולסטרול היה קיצוני והביא לעליה של פי 5 ברמת כולסטרול בכבד (טבלה 5); גם דיאטת הצלולוז לא הצליחה להוריד רמות אלו. (ב) יתכן ורמת הסיבים בדיאטה הייתה נמוכה שלא אפשרה לגרום לירידה ברמות הפרמטרים בדם. חיזוק לכך מתקבל שהסיבים לא הצליחו גם להוריד את רמת הסיבים בכבד שדבר שהשתקף ברמות הפרמטרים בדם. מן הראוי לזכור, שחולדות אינן המודל "המוצלח" להיפרכולסטרולמיה, זאת יכולתן לווסת ולעשות רגולציה של כולסטרול בצורה יעילה בהרבה מזה של האדם. זהו חיסרון ידוע של המודל עדיין משתמשים בו למחקר מסוג זה משום כך ברמה כזו של סיבים שנתנה בדיאטה וכן במודל "קיצוני" יחסית לא הצלחנו להבחין באפקט היפרכולסטרולמי.

#### טבלה מס' 5. השפעת אבקות לבבות ארטישוק על פרמטרים ביוכימיים בסרום ובכבד חולדות (2008).

| כולסטרול בכבד<br>mg/g liver | Glucose<br>mg/DL | Cholesterol<br>mg/DL | LDL<br>mg/DL | HDL<br>mg/DL | Triglyceride<br>mg/DL | הדיאטה                       |
|-----------------------------|------------------|----------------------|--------------|--------------|-----------------------|------------------------------|
| 15.3±4.0                    | 177.5 ± 24.4     | 102.3 ± 15           | 55.2 ± 18.8  | 35.45 ± 3.3  | 99.8 ± 42             | ביקורת - צלולוז              |
| 77.0±5.8                    | 190.8 ± 9.5      | 107.6 ± 7.6          | 64.4 ± 15.9  | 35.7 ± 4.4   | 90 ± 8.2              | ביקורת + כולסטרול            |
| 62.8±4.8                    | 149.8 ± 15       | 78 ± 7.6             | 34.2 ± 6.8   | 32.9 ± 2.7   | 102 ± 2.6             | תחמיץ לבבות בקורת + כולסטרול |
| 65.8±3.7                    | 156.3 ± 13.2     | 70.7 ± 6.6           | 43.6 ± 2.6   | 33.9 ± 7     | 83.7 ± 15.5           | תחמיץ לבבות מטופל + כולסטרול |

טבלה מס. 6. נותנת את הפרמטרים הכימיים בסרום של אוגרים לאחר 30 יום (2009). טבלה מס. 7. נותנת את הפרמטרים של כבד אוגרים.

**טבלה מס' 6. השפעת אבקת לבבות ארטישוק על פרמטרים ביוכימיים בסרום אוגרים (2009).**

| הדיאטה            | Triglyceride mg/DL | HDL mg/DL  | Cholesterol mg/DL | Glucose mg/DL |
|-------------------|--------------------|------------|-------------------|---------------|
| בקורת             | 280.3±57.5         | 177.1±4.2  | 282.1±8.2         | 197.0±18.3    |
| תחמיץ לבבות בקורת | 145.0±12.0         | *86.6±11.5 | *126.7±14.5       | *134.2±19.5   |
| תחמיץ לבבות מטופל | 165.2±29.5         | *99.5±10.1 | *150.7±9.9        | *137.7±8.4    |

\*מובהקות סטטיסטית ( $P < 0.05$ )

**טבלה מס' 7. השפעת אבקת לבבות ארטישוק על פרמטרים של כבד אוגרים (2009).**

| הדיאטה            | משקל הכבד (ג') | שומן (ג'/ג') | כולסטרול (מ"ג/ג') |
|-------------------|----------------|--------------|-------------------|
| בקורת             | 6.93±0.40      | 0.113±0.013  | 11.8±0.8          |
| תחמיץ לבבות בקורת | 4.34±0.14      | 0.088±0.016  | 10.6±1.7          |
| תחמיץ לבבות מטופל | 4.36±0.34      | 0.083±0.022  | *7.5±1.2          |

כפי שניתן מטבלה מס' 6 אוגרים אשר הוזנו בדיאטה שהכילה 0.3% כולסטרול ואבקת ארטישוק הביאו לירידה ברמות כולסטרול עם נטייה לאפקט משמעותי של אבקת הארטישוק אשר עבר טיפול אנזימטי. הבדל יותר משמעותי אובחן ברמות ה-HDL, כולסטרול, הכל בהשוואה לדיאטת ה-Control. רמות הגלוקוז היו אף הן נמוכות בקבוצות שהוזנו בדיאטות שהכילה אבקת ארטישוק באופן כללי עם אפקט בולט בקבוצה שהכילה ארטישוק שעבר טיפול אנזימטי. מתוך הנתונים האלו ניתן להבין, שארטישוק אכן בעל פוטנציאל להורדת פרופיל השומנים באוגרים היפרכולסטרולמים. בנוסף לכך, ארטישוק נמצא כבעל יכולת להוריד רמת גלוקוז.

טיפול ארטישוק באמצעות אנזימטיים לא הוביל לשיפור משמעותי נוסף לאפקט שהתגלה בארטישוק ללא טיפול. יחד עם זאת, כאשר בוחנים את השפעות הארטישוק על כמות הכולסטרול בכבד (טבלה מס' 7), רואים בבירור ובאופן משמעותי שאכן ארטישוק שעבר טיפול הוריד בצורה משמעותית את רמות הכולסטרול בכבד, אך זה לא התבטא ברמות הכולסטרול בדם. יתכן וכולסטרול זה נותב לנתיבים מטבולים אחרים שלא יכולנו לזהות. ממצא זה מעיד על האפקט הישיר של אבקת הארטישוק שעבר טיפול על מאזן הכולסטרול ברקמה עצמה. משקל הכבד (טבלה מס' 7), היה נמוך יותר בטיפולים בהשוואה ל-Control, כי הכבד הפך להיות שמנוני ולכן קל יותר, כמות השומן הייתה נמוכה (טבלה מס' 7), כי מאזן השומנים הלך ל"טובת" הכולסטרול והסיט את הכל לכוונו.

אנו מניחים שפוטנציאל זה של הארטישוק נבע בעיקר מתכולת הסיבים התזונתיים, אשר "הפריעו" למאזן ולהומאוסטזיס של הכולסטרול, הן ברמה של ספיגה (עיכוב) והן ברמה של הפרעה, למעגל האנטרו-הפטי. סביר להניח שאבקת הארטישוק לא רק שהפריעה לספיגה אלא גם ספחה והרחיקה ממערכת העיכול חלק ממרכיבי המזון ובכך הקטין את זמינותם בדם. אך לא ניתן לשלול שיתכן וחומרים נוספים ממשפחת הפטוסטרולים, תרמו לאפקט ההיפוכולסטרולי.

### **מסקנות:**

1. ארטישוק, נמצא כמקור תזונתי יעיל מאוד להורדת כמות כולסטרול ושומנים ואף במידת מה רמות גלוקוז ירדו.
2. המחקר הראה כי החמצת לבבות ארטישוק אפשרית ותהליך זה עשוי להיות בהחלט חלופה יותר זולה מהקפאה (שבה משתמשים כיום) לשימור ואחסון הירק עד לשימוש בו.
3. הטיפול באנזימים שמטרתו הייתה ל"שחרר" חומרים ולשפר את היעילות של חומרים בתוך הארטישוק לא הוכיח את עצמו בצורה משמעותית למרות שיש אינדיקציות לכך בסוגי צמחים אחרים, וגישה זו ראויה להיבחן בפיתוח עתידי.

### **לסיכום:**

ניסוי זה מוביל אותנו למסקנה חד משמעית, ארטישוק יכול להוות אמצעי עזר לאיזון פרופיל כולסטרול ושומן.

### **הבעת תודה**

ברצוננו ולהודות למפעל אוריאל יבולים (מושב שפיר) ולמפעל סנפרוסט (מגדל העמק) שתרמו את לבבות הארטישוק לניסויים.

- 1.Hill, J.O. and Peters JC. Biomarkers and functional foods for obesity and diabetes. Br. J. Nutr. 2002, 88 Suppl 2:S213-218.
- 2.Hardy, G. et al. Nutraceuticals - a pharmaceutical viewpoint: part II. Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 2003, 6, 661-671.
- 3.Fintelmann, V. Antidyspeptic and lipid lowering effect of artichoke leaf extract, Zeitschrift fur Allgemeinmedizin , 1996, 72S, 3–19.
- 4.Kraft, K. Artichoke leaf extract-recent findings reflecting effects on lipid metabolism, liver, and gastrointestinal tracts. Phytomedicine 1997, 4, 369-378
- 5.Gebhardt, R. Antioxidative and Protective Properties of Extracts from Leaves of the Artichoke (*Cynara scolymus* L.) against Hydroperoxide-Induced Oxidative Stress in Cultured Rat Hepatocytes. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1997, 144, 279–286.
- 6.Liorach, R. et al.. Antichoke byproducts as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics. J. Agric. Food Chem. 2002, 50, 3458-3464.
- 7.Zapolska-Downer, J. et al. Protective properties of artichoke (*Cynara scolymus*) against oxidative stress induced in cultured endothelial cells and monocytes, Life Sci. 2002,71, 2808–2897.
- 8.Jimenez-Escrig, A. et al. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. J. Agric. Food Chem. 2003, 51, 5540-45.
- 9.Tomás-Barberán, F.A. et al . Antioxidant phenolic metabolites from fruit and vegetables and changes during postharvest storage and processing. In *Bioactive Natural Products (Part D)*; Rahman, A., Ed. Elsevier Science: Amsterdam, The Netherlands, 2000; pp 739-795.
- 10.Gebhardt, R. Inhibition of cholesterol biosynthesis in HepG2 cells by artichoke extracts is reinforced by glucosidase pre-treatment, Phytoterapy Research 2002, 16, 368–372.
- 11.Saenz Rodriguez, X. et al. . Choleric activity and biliary elimination of lipids and bile acids induced by an artichoke leaf extract in rats, Phytomedicine 2002, 9, 687–693.

12. Pittler, A. et al. Artichoke leaf extract for treating hypercholesterolemia, Cochrane Database System Review 2002, 3, CD003335.
13. Lupattelli, G. et al. Artichoke juice improves endothelial function in hyperlipemia. Life Sci., 2004, 31, 76, 775-82.
14. Pieroni, A. et al. Culinary uses of non-cultivated local vegetables and mushrooms in a south Italian village. Int. J. Food Sci. Nutr. 2005, 56, 245-272
15. Grande, S. et al. Vasomodulating potential of mediterranean wild plant extracts. J. Agric. Food Chem. 2004, 52, 5021-5026.
16. Rossoni, G. et al. Wild Artichoke Prevents the Age-Associated Loss of Vasomotor Function. J. Agric. Food Chem. 2005, 53, 10291-10296.
17. Zhu, X.F. et al. Phenolic compounds from the leaf extract of artichoke (*Cynara scolymus* L.) and their antimicrobial activities. J. Agric. Food Chem., 2004, 52, 24, 7272 -7278.
18. Sang, K.J. et al. Inhibition of Alpha-glucosidase and amylase by luteolin, a flavonoid. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2000, 64, 2458-2461
19. Weinberg, Z.G. et al.. Ensiling peas, ryegrass and wheat with additives of lactic acid bacteria (LAB) and cell-wall degrading enzymes. Grass Forage Sci. 1993, 48: 70-78.
20. Weinberg, Z.G. et al , Recovery of protein and chlorophyll from alfalfa by simultaneous lactic acid fermentation and enzyme hydrolysis (ENLAC). Enzyme Microbiol. Technol. 1990, 12: 921-925.
21. Tengerdy, R.P. et al. Biotransformation of sweet sorghum with In-situ produced enzymes. Appl. Biochem. Biotechnol. 1997, 57/58: 563-569.
22. Weinberg, Z.G. et al. Enhancement of polyphenol recovery from rosemary (*Rosmarinus officinalis*) and sage (*Salvia officinalis*) by enzyme-assisted ensiling (ENLAC). J. Agric. Food. Chem. 1999, 47: 2959-2962.
23. Barker, S.B. and Summerson, W.H. 1941. The colorimetric determination of lactic acid in biological material. J. Biol. Chem. 138, 535-554.

## סיכום עם שאלות מנחות

נא להתייחס ל**כל** השאלות בקצרה ולעניין, ב-3 עד 4 שורות לכל שאלה (לא תובא בחשבון חריגה מגבולות המסגרת המודפסת).

שיתוף הפעולה שלך יסייע לתהליך ההערכה של תוצאות המחקר.

**הערה:** נא לציין הפנייה לדו"ח אם נכללו בו נקודות נוספות לאלה שבסיכום.

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| מטרות המחקר תוך התייחסות לתוכנית העבודה.                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| מטרות המחקר כללו את בחינת השפעת הטיפול בתרביית של חידקי חומצת חלב ואנזימים מפרקי דופן תא על התכונות הפונקציונליות של תחמיצי לבבות ארטישוק. מטרה ראשית נוספת הייתה לבחון השפעת הזנת חולדות ואוגרים בתחמיצי לבבות ארטישוק על פרמטרים תזונתיים בדם ובכבד.                                                                                                 |
| עיקרי הניסויים והתוצאות.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| לא נמצאו הבדלים בין טיפולי התחמיצים ביחס להשפעות התזונתיות של לבבות הארטישוק. הזנת החולדות בדיאטה שכללה תחמיצי לבבות ארטישוק הביאה לירידה ברמות הטריגליצרידים והכולסטרול בדם אך לא באופן מובהק יחסית לדיאטת בקורת. באוגרים, הזנת תחמיצי לבבות ארטישוק גרמה לירידה מובהקת ברמות הטריגליצרידים, HDL וכולסטרול בסרום; גם רמות הכולסטרול בכבד היו מופחתות. |
| מסקנות מדעיות וההשלכות לגבי יישום המחקר והמשכו. האם הושגו מטרות המחקר לתקופת הדוח?                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| חולדות לא היו מודל טוב לבחינת השפעת אבקת לבבות ארטישוק על מדדים ביוכימיים בסרום כי הן מסוגלות לווסת בדמן את רמות הכולסטרול והשומנים. אולם באוגרים השפעת ההזנה בתחמיצי לבבות ארטישוק על המדדים הביוכימיים שנבחנו היו מובהקות וכמו כן הייתה פחיתה ברמתם בכבד.                                                                                            |
| יתרון ההחמצה נובע משיטת השימור של החומר הצמחי שיותר זולה מהקפאה.                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| בעיות שנותרו לפתרון ו/או שינויים (טכנולוגיים, שיווקיים ואחרים) שחלו במהלך העבודה; התייחסות המשך המחקר לגביהן, האם יושגו מטרות המחקר בתקופה שנותרה לביצוע תוכנית המחקר?                                                                                                                                                                                 |
| אין.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| הפצת הידע שנוצר בתקופת הדו"ח: <b>פרסומים בכתב</b> - ציטט ביבליוגרפי כמקובל בפרסום מאמר מדעי; <b>פגנטים</b> - יש לציין שם ומס' פגנט; <b>הרצאות וימי עיון</b> - יש לפרט מקום, תאריך, ציטוט ביבליוגרפי של התקציר כמקובל בפרסום מאמר מדעי.                                                                                                                 |
| בינתיים התוצאות מסוכמות בדוחות בלבד.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| פרסום הדוח: אני ממליץ לפרסם את הדוח: (סמן אחת מהאופציות)                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| רק בספריות                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| ללא הגבלה (בספריות ובאינטרנט) X                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| חסוי – לא לפרסם                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| האם בכוונתך להגיש תוכנית המשך בתום תקופת המחקר הנוכחי? כן* - לא – לא.                                                                                                                                                                                                                                                                                  |