مقارنة الفعل المضاد للتأكسد لمستخلصات بعض النباتات العطرية ودراسة فعاليتها في المايونيز

منال داغستاني [1]

الملخص

أُعِدت مستخلصات ايتانولية من أربعة نباتات عطرية وهي: إكليل الجبل والنعناع الفلفلي والزعتر البري والثوم . عُين المحتوى الكلي للفينولات في كل منها، وقُيّم الفعل المضاد للتأكسد مقارنة بمضاد التأكسد الطبيعي (فيتامين C) من خلال تحديد قدرة كل مستخلص على تثبيط الجذر الحر1،1- ثنائي فينيل -2- بكريل هيدرازيل (DPPH)، وعلى قدرته الإرجاعية لأيون الحديد الثلاثي بطريقة الفينانترولين. كما قُيِّم الفعل المضاد لتأكسد المواد الدسمة بمعالجة عينات المايونيز بالمستخلصات وبمضاد التأكسد الصنعي (بوتيل هيدروكسي الأنيسول؛ BHA)؛ وذلك من خلال تعيين كل من المتثابتات الكيميائية الآتية:

قيمة *p*H الوسط وقيمة الحموض الدسمة الحرة في أثناء عملية التخزين.

الكلمات المفتاحية: النباتات العطرية، الفعالية المضادة للتأكسد، المايونيز، تأكسد الدسم.

[1] قسم الكيمياء- كلية العلوم- جامعة دمشق

Comparison the Antioxidant Activity of Some Aromatic Plants Extracts and Studying Their Effectiveness In Mayonnaise

Manal daghestani[(1)]

ABSTRACT

Ethanolic extracts were prepared from four aromatic plants: rosemary, mint, wild thyme and garlic. The total phenolics content of plant extracts were determined. The antioxidant activity was compared with natural antioxidant (Vit C) through determination of the radical-scavenging ability of each plant extract by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay and Ferric Reducing/ Antioxidant Power assay (FRAP). Also, the effect of each extract on lipid oxidation was studied. Mayonnaise samples were treated with different plant extracts and with the synthetic antioxidant (butylated hydroxyl anisole; BHA), the antioxidant activities of the treated samples were evaluated using chemical parameters like peroxide value, *p*H and free fatty acid value during storage.

Keywords: Aromatic plants, Antioxidant activity, Mayonnaise, Lipid oxidation

[(1)]Faculty of science, Department of chemistry, Damascus University

المقدمة Introduction

استخدمت النباتات العطرية، والمعروفة أيضاً باسم الأعشاب والتوابل، منذ العصور القديمة في الطب البديل، وفي الأغذية كمواد حافظة ومعززة للرائحة والنكهة (Collin, 2006; Li, 2006) . يعدَّ كل من إكليل الجبل والنعناع والزعتر والثوم والريحان وما إلى ذلك، من أشهر النباتات العطرية التي تنبت في منطقة البحر الأبيض المتوسط (Bampidis, *et al*., 2005; Ocak, *et al*., 2008; Kadri *et al*., 2011)، ازداد الطلب على هذه النباتات ومشتقاتها كونها طبيعيةً وصديقةً للبيئة ومعترفاً بها عموماً ضمن المنتجات الآمنة في الأدوية والمواد الغذائية والأعلاف (Windisch *et al*., 2009). بيّنت الدراسات أنها قد تقلل من خطر الإصابة بالسرطان أو أمراض القلب والأوعية الدموية (Duthie *et al*., 1994; Milner, 1994)، وقد تسهم أيضاً في الوقاية من/أو علاج مجموعة واسعة من الأمراض (Kadri, *et al.*, 2011) مثل أمراض الجهاز التنفسي والمعدة أو الاضطرابات الالتهابية. تحتوي هذه النباتات على العديد من المركبات الفعالة حيوياً، من بينها متعددات الفينول والكينونات ومشتقات الفلافونويدات والقلويدات وما إلى ذلك (Perumalla, 2011; Negi, 2012). إذْ يمكن لبعض هذه المركبات أن تعزز النشاط الحيوي (Tiwari, 2008). وتشير الدراسات إلى امتلاك هذه المركبات فعالية مضادة للتأكسد ومطهرة أيضاً (Li, 2006; Madsen and Bertelsen, 1995)، فضلاً عن الخصائص المضادة للالتهابات (Perumalla and Hettiarachchy,2011 ; Negi, 2012)، كما أنها تحتوي على مركبات مضادة لنمو الميكروبات والفطريات التي تؤثر في الأطعمة (Elgayyar *et al*., 2001) ولاسيّما الوجبات السريعة ومنتجات اللحوم، من خلال إسهامها في تأخر عمليات التأكسد والتزنخ، وتأخير تطور النكهة غير المستحبة في بعض المنتجات الغذائية (Duke , 2002).

يعدُّ تأكسد الدسم في المنتجات الغذائية من أهم العوامل الرئيسة التي تؤثر في جودة المنتج (Frankel, 1993). ويركز توجه الصناعات الغذائية الحديثة نحو رفع جودة المنتجات الغذائية من حيث الطعم والرائحة والسلامة بإضافة مضادات تأكسد طبيعية تكون أقل ضرراً على الصحة العامة، وإرضاء المستهلك بتأمين المنتجات الآمنة صحياً. لهذا كان التركيز على المنتجات والعناصر الممرضة الآتية:

السلمونيلا salmonella في دجاج الشواء، والسلمونيلا في البيض والليستيريا listeria في الأغذية الجاهزة . لهذا وقع الاختيار على مادة المايونيز في هذه الدراسة كنموذج للأغذية الغنية بالدسم، كونها مادة تحتوي على مواد دسمة مثل الزيت النباتي و البيض اللذين يعدّان وسطاً مناسباً لنمو العضويات الدقيقة.

تبيّن في أثناء مراجعة البحوث في هذا المجال اهتمام منتجي البيض بزمن المعالجة الحرارية ودرجة الحرارة المطبقة، لأن منتجاتهم يجب أن تحقق السلامة من النمو البكتيري والجرثومي إضافة إلى أنه يجب أن تكون مقبولة وترضي ذوق المستهلك (Cunningham, 1995). إن المعالجة الحرارية تضمن أمن المنتجات التي يدخل فيها البيض وتزيد من مدة صلاحية استخدامها. تبين أنه يمكن حضن صفار البيض تحت الدرجة 60-68°C مدة زمنية تراوح بين بضع ثوانٍ وحتى عشر دقائق بالاعتماد على درجة الحرارة، صمم هذه المعالجة (Le Denmat *et al*, 1999) لتثبيط الأحياء الدقيقة الممرضة كالسالمونيلا دون إحداث أي ضرر في بروتينات صفار البيض.

هدف البحث Objective

تقييم الفعل المضاد للتأكسد لمستخلصات كل من الأعشاب العطرية (إكليل الجبل والزعتر البري والنعناع الفلفلي) والثوم الكسواني، ومن ثم تطبيقها في المايونيز المحضر مخبرياً كمضادات تأكسد طبيعية لمعرفة تأثير هذه المستخلصات في زيادة عمر تخزين المايونيز.

مواد البحث وطرائقه Material and Methods

– **العينات samples:** اشتريَتِ النباتات العطرية إكليل الجبل والزعتر البري والنعناع الفلفلي والثوم الكسواني من السوق المحلية.

تحضير المستخلصات **Extracts Preparation**

- من الأعشاب العطرية: غسلت الأوراق وجففت بالهواء، ومن ثم طحنت وحفظت. استخلص 100غ من الأوراق المجففة للنباتات الآتية: إكليل الجبل والنعناع والزعتركل على حدة بـ 500 مل من الإيتانول 70% على أربع مراحل (استعمل 200 مل الايتانول 70% في المرحلة الأولى، و100 مل منه في كل مرحلة من المراحل اللاحقة)، حُركت العينات جيداً باستخدام خلاط دائري، ثم وضعت للاستخلاص في جهاز الأمواج فوق الصوتيةultrasound bath ؛وذلك عند درجة الحرارة 50°C مدة نصف ساعة، أُجْرِيَتِ فلترة لمستخلصات بفلاتر (0.45µm). بخر الايتانول بالمبخر الدوار عند الدرجة 50°C وجفد المتبقي. حفظت المستخلصات الجافة في الدرجة (4°C) إلى حين تحليلها.
- من الثوم: سحق 20 غ من الثوم الطازج بالهاون البورسلان بعد إزالة القشر عنه، ومن ثم أضيف 20 مل ايتانول 70%، فوقه ونقل كمياً إلى أرلينه (حجم الرشاحة الكلية 50 مل)، ثم وضعت العينات للاستخلاص في جهاز الأمواج فوق الصوتية؛ وذلك عند درجة الحرارة 50°C لمدة نصف ساعة، صُفِّيَتْ بعدئذٍ تصفية الرشاحة باستعمال Whatman No. 4، ومن ثم

مررت بفلاتر (0.45µm). بخر الايتانول بالمبخر الدوارعند الدرجة 50°C وجفد المتبقي. حفظ مستخلص الثوم الجاف في الدرجة (4°C) إلى حين استخدامه.

- **المواد الكيميائية والأجهزة Chemicals & equipment:**

- المواد الكيميائية المستخدمة في البحث جميعها(الإيتانول، كربونات الصوديوم اللامائية، الفينانترولين، فيتامين C، حمض الخل الثلجي، كلوروفورم، كلور الحديد، حمض الغاليك Gallic acid، كاشف الفولين FCR، DPPH) ذات نقاوة تحليلية من شركة Sigma.
- حمام مائي يعمل بالأمواج فوق صوتية نموذج Transsonic 460/H (Elma)، مبخر دوار، مجفدة، جهاز الامتصاص في مجال الأشعة فوق البنفسجية والمرئية UV-VIS.

- **تعيين المحتوى الكلي للفينولات Determination of total phenols content**

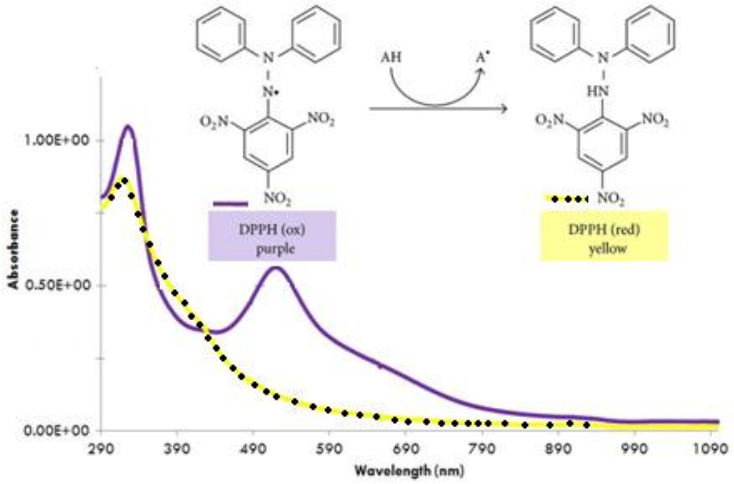
طبقت طريقة الفولين لتعيين الفينولات الكلية. تعتمد هذه الطريقة على إرجاع الفينولات لحمض فوسفو موليبدي– فوسفو تنغستي في وسط قلوي حيث يتلون المحلول باللون الأزرق نتيجة تشكل مركبات زرقاء اللون مثل $(PMoW_{11}O_{40})^{4-}$، يقاس بعدئذ الامتصاص عند طول موجة 760nm (Singleton *et al*.,1999).

وضع 200µl من العينة الممددة بالإيتانول 70% في أنبوب اختبار، وأضيف إليها 500µl من كاشف فولين، و2 ml ماء ثنائي التقطير و 1ml كربونات الصوديوم اللامائية (8%w/v)، ثم تركت بعد التحريك جيداً في مكان مظلم عند درجة حرارة الغرفة مدة ساعة، وسجلت الامتصاصية عند λ_{max} = 760nm بالمقارنة بعينة شاهدة. طبقت الطريقة على سلسلة معيارية من حمض الغاليك 0-125 mg\l في الإيتانول 70%، وجرى التعبير عن تركيز الفينولات كمكافئات لحمض الغاليك (GaE/g dw) لكل غرام خلاصة نبات جافة.

تعيين الفعل المضاد للتأكسد للخلاصات العطرية Determination of the antioxidant activity of aromatic plant extracts

- **تثبيط الجذر الحر DPPH· inhibition**

يعتمد مبدأ هذا التفاعل على التغير اللوني لجذر الـ DPPH من اللون البنفسجي الشديد إلى اللون الأصفر الفاتح، ويعدّ تناقص قيم الامتصاصية للمزيج التفاعلي عند طول الموجة 515nm (الشكل 1) دليلاً على تزايد قدرة العينة على تثبيط الجذور الحرة (Ebrahimzadeh *et al*., 2008).



(الشكل 1) تغير امتصاصية جذر الـ DPPH بوجود مادة مثبطة له

أخذ 200µl من المستخلص النباتي بالتراكيز الآتية (12.5, 25, 50, 100 µg/ml) وأضيف إلى كل منها 50µl من محلول الـDPPH (39µg/ml)، وحفظت العينات في الظلام لمدة 30min عند درجة حرارة الغرفة، سجلت قيم الامتصاصية للعينات، واستخدم القانون الآتي لحساب قدرة المستخلصات على تثبيط الجذور الحرة:

$$I_{DPPH}\ \% = [(A_B - A_A)/A_B] \times 100$$

إذْ: A_A امتصاصية العينة، A_B امتصاصية العينة الشاهدة.

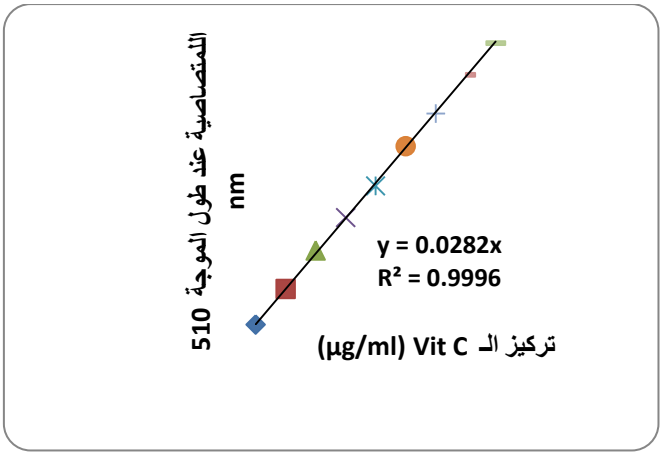
استخدمت محاليل من Vit C بتراكيز (12.5-100µg/ml) كمعياري لاختبار تثبيط الجذور الحرة ، وجرى التعبير عن النتائج بمكرو غرام فيتامين c لكل غرام مستخلص نباتي مجفف(µg Vit C/g dw) .

- **تعيين قدرة المستخلصاتعلى إرجاع أيون الحديد الثلاثي:**

يستخدم إرجاع Fe^{+3} كمؤشر على قدرة المركبات على منح الالكترونات، وهو مايفسر آلية عمل مضادات التأكسد الفينولية (Nabavi *et al.*, 2009). إن وجود مضادات تأكسد في المستخلصات يؤدي إلى إرجاع شوارد Fe^{+3} إلى شوارد Fe^{+2}، ويُراقَبُ التفاعل بتسجيل تناقص امتصاص شوارد Fe^{+3} عند طول الموجة 420 نانومتراً (Sasaki *et al.*, 1991).

عُيِّنَتِ القدرة الإرجاعية للمستخلصات بعد تعديل طريقة (Sasaki *et al.*,1991) من خلال دراسة تفاعل المستخلصات النباتية مع أيونات الحديد الثلاثي بحضور الفينانترولين (الذي

يشكل معقداً أحمرَ مع Fe^{+2} وتسجيل قيم امتصاصية المعقد [Fe^{+2} – فينانترولين] عند طول الموجة 510 نانومتر. استخدم Vit C كمركّب معياري **الشكل (2)** بسبب قدرته الإرجاعية الكبيرة.



(الشكل 2) القدرة الارجاعية لـ Vit C بطريقة الفينانترولين

– تأثير المستخلصات في عمر المايونيز

- **طريقة تحضير المايونيز**

حُضّرَ المايونيز وفق المقادير المذكور في دراسة(Guilmineau and Kulozik, 2007): 80% زيت دوار الشمس، 7.5% ماء ثنائي التقطير، 7.5% صفار بيض، 3.5% محلول حمض الخل (10%)، 0.5% سكر، 1% ملح الطعام. حيث خلط صفار البيض مع الماء والسكر والملح ووضع في حمام مائي (68^oC) مع التحريك، ثم وضعت مباشرة بعد مرور عشر دقائق في حمام ثلجي. وضع المزيج المُبَرد في خلاط وأُضيفت إليه نصف كمية الزيت قطرة قطرة، وبعد أن بدأ المايونيز بتشكل، أُضيف الزيت على شكل خيط رفيع حتى انتهاء نصف كمية الزيت. ومن ثم أُضيف حمض الخل دفعة واحدة مع الاستمرار بالخلط (يمكننا أن نستخدم السرعة العالية للخلاط عند إضافة النصف الثاني من الزيت).

- **تطبيق المستخلصات في المايونيز**

أضيفت المستخلصات إلى المايونيز المحضر وبتركيز 200ppm، ووُضعت العينات المختلفة في أوعية زجاجية ذات غطاء مُصَنفر. قُسِمت العينات بعدئذٍ إلى ثلاث مجموعات

مكررة، كل مجموعة تحوي عينة شاهدة من المايونيز، وعينات المايونيز المضاف إليها أحد المستخلصات، فضلاً عن عينات أضيف BHA وبالتركيز الموصى به 200ppm وذلك لمقارنة الفعالية المضادة للتأكسد. رُمزت العينات كالآتي: (A) عينة المايونيز التجربة الشاهدة، (B) عينة المايونيز المضاف إليها مستخلص الزعتر، (C) عينة المايونيز المضاف إليها مستخلص إكليل الجبل، (D) عينة المايونيز المضاف إليها مستخلص النعناع، (E) عينة المايونيز المضاف إليها مستخلص الثوم، (F) عينة المايونيز المضاف إليها BHA. خُزِنت العينات عند درجة الحرارة (25^oC) وروقِبَ تطور تأكسدها خلال ثلاثة أشهر وقُيِّمَتْ فعالية المستخلصات كمضادات تأكسد في المايونيز وفق الاختبارات الآتية:

- **قياس الـ** *p*H (AOAC,1984)

روقِبَ تغير قيم *p*H الوسط في أثناء التخزين باستخدام مقياس *p*H من شركة Orion.

- **قيمة البيروكسيد Peroxide Value (PV)**

حُدِّدَتْ قيمة البيروكسيد في عينات المايونيز المختلفة وفق طريقة (Pearson, 1991) بعد إجراء بعض التعديلات إذْ أخذ 1غ من عينة المايونيز المراد اختبارها في أرلينة المعايرة 100 مل، وأضيف 20 مل من مزيج المذيب (حمض خل ثلجي: كلوروفورم بنسبة 1:2) حُرك المزيج جيداً ثم أضيف 10 مل من محلول يود البوتاسيوم المشبع، وترك في الظلام مدة 10 دقائق. أضيف 30 مل ماءً مقطراً ثم عُوبِرَ المزيج بمحلول تيوسلفات الصوديوم 0.001 مول، وحُسبت قيمة البيروكسيد *Pv* **(meq/ kg)**

$$Pv = (V - V_0) \cdot M \cdot 100 / W$$

إذْ : V حجم تيوسلفات الصوديوم الذي لزم لمعايرة العينة، V_0 حجم تيوسلفات الصوديوم الذي لزم لمعايرة التجربة الشاهدة، M مولية محلول تيوسلفات الصوديوم، W وزن العينة.

حسبت بعدئذٍ الفعالية المئوية لمضادات التأكسد المضافة بعد انتهاء مدة التخزين وفق العلاقة:

$$Antioxidant\ effectiveness = (PV_{\text{الشاهد}} - PV_{\text{العينة}}) \times 100 / PV_{\text{الشاهد}}$$

(Adegoke *et al*., 1998)

حيث: الشاهد pv قيمة بيروكسيد التجربة الشاهدة بعد التخزين عند الدرجة 25^0C لمدة ثلاثة أشهر العينة pv

قيمة بيروكسيد العينة المضاف إليها المستخلص بعد التخزين عند الدرجة 25^0 C لمدة ثلاثة أشهر (Adegok et ., 1998)

- **تعيين محتوى الحموض الدسمة الحرة Free Fatty Acid (FFA)**

عُيِّنَتِ الحموض الدسمة الحرة (FFA) بطريقة المعايرة المتبعة وفقاً لـ (AOAC, 1984). إذْ حُلّ 1 غ من المايونيز بمزيج من (25 مل من الإيتر الإيتيلي و25 مل من الكحول المعدل بمحلـول M 0.1 هيدروكسـيد الصـوديوم) وحـرك جيـداً، ثـم عـوير بمحلـول هيدروكسـيد الصوديوم 0.1 M. وحسبت كمية FFA من العلاقة:

$$Acid\ value \text{ قيمة الحموضة } = (5.61 \times V_{NaOH})/W$$

V حجم محلول هيدروكسيد الصوديوم مل، W وزن العينة غ.

إذْ W وزن العينة غ .

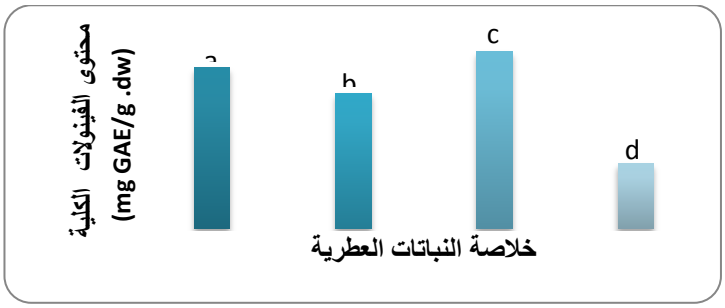
الدراسة الإحصائية Statistical analysis

أنجزت كل تجربة ثلاث مرات (n=3)، وجرى التعبير عن النتائج بالشكل المتوسط ± الانحراف المعياري SD وبمستوى ثقة 95% ($\alpha = 0.05$)، حُلِّلتِ النتائج إحصائياً باستخدام برنامج IBM-20.0 SPSS، وحددت العلاقة بين محتوى الفينولات والقدرة على تثبيط الجذور الحرة والقدرة الإرجاعية في النباتات العطرية المدروسة وفقاً لاختباري T-Test و One-Way Anova test ($p<0.05$).

النتائج ومناقشتها:

– محتوى الفينولات الكلية والخصائص المضادة للتأكسد للنباتات العطرية المدروسة

اختلف محتوى الفينولات الكلية في المستخلصات النباتية بطريقة الفولين اختلافاً كبيراً الشكل (3)، إذْ تناقص محتوى الفينولات فيها على النحو: الزعتر البري > النعناع > اكليل الجبل > الثوم.



(الشكل 3) محتوى الفينولات الكلية
تدل الأحرف المختلفة الصغيرة ^{a,b,c,} على وجود فروق معنوية

تشابهت هذه النتائج مع دراسة (Cosio *et al.*, 2006)، في حين اختلفت النتائج التي حصلنا عليها عن نتائج الدراسة التي قام بها (Wojdyło *et al.*, 2007)، إذْ كان محتوى الفينولات في خلاصة إكليل الجبل أعلى من محتوى الفينولات في خلاصة الزعتر.

أظهرت البحوث السابقة وجود فروقات كبيرة في محتوى الفينولات الكلية لمستخلصات الثوم، بلغت قيمة الفينولات في دراسة (Leelarungrayub *et al.*, 2006) تقريباً 500 mg GAE/g، أما (Nencini *et al.*, 2007) فوجد أن الفينولات الكلية تراوح بين القيمتين (0.65 & 0.32) mg GAE/g. بيّنت دراسات أخرى غنى الأعشاب بالمركبات الفينولية التي يعتمد اختلاف محتواها اعتماداً كبيراً على اختلاف الموقع الجغرافي والبيئة. ويختلف أيضاً محتوى الفينولات الكلي باختلاف طريقة الاستخلاص وبطريقة التعيين المتبعة.

تتميز متعددات الفينول النباتية بخصائص مضادة للتأكسد جيدة، ويعدُّ اختباراً الـ DPPH$^{\bullet}$والقدرة الإرجاعية من أكثر الاختبارات استعمالاً. أظهرت نتائج البحث الموضّحة في الجدول (1) قدرة المستخلصات المدروسة على تثبيط الـ DPPH$^{\bullet}$، إذْ كانت أعلى قيمة لخلاصة الزعتر بما يعادل (11.81 **µ**g Vit C/g) تلتها خلاصة النعناع (9.84 mg **µ**g Vit C/g)، ومن ثم خلاصة الثوم (5.42 **µ**g Vit C/g) وهي تقريباً نصف قدرة خلاصة الزعتر، أمَّا خلاصة إكليل الجبل فأظهرت أقل قدرة بلغت القيمة (3.83 **µ**g Vit C/g).

الجدول (1) قدرة المستخلصات على تثبيط الـ DPPH$^{\bullet}$ وقدرتها الإرجاعية (µg VitC/g)

مستخلص	DPPH (µg vit C/g)	FRAP (µg VitC/g)
الزعتر البري	$11.81 \pm 0.15^{a,A}$	$5.59 \pm 0.09^{a,B}$
إكليل الجبل	$3.83 \pm 0.07^{b,A}$	$4.71 \pm 0.09^{b,B}$
النعناع الفلفلي	$9.84 \pm 0.11^{c,A}$	$6.16 \pm 0.10^{a,B}$
الثوم الكسواني	$5.42 \pm 0.09^{d,A}$	$5.70 \pm 0.11^{a,A}$

تدل الأحرف المختلفة الصغيرة ^{a,b,c,} على وجود فروق معنوية ضمن العمود الواحد لكل طريقة (FRAP, DPPH) بين المستخلصات المدروسة.

تدل الأحرف المختلفة الكبيرة ^{A,B,} على وجود فروق معنوية ضمن السطر الواحد في نسبة تثبيط DPPH والقدرة الإرجاعية لكل مستخلص.

تبيّن لدى تحليل نتائج مستخلصات النباتات العطرية المدروسة أنه يمكن أن تكون مصدراً واعداً لمضادات تأكسد طبيعية، ومن الصعب تفضيل إحداها على الأخرى. أظهرت النتائج اختلاف قدرة هذه المستخلصات في تثبيط DPPH$^{\bullet}$ وفي قدرتها الإرجاعية أيضاً، ويتوقف هذا على طريقة التقييم وآلية فعلها كمضادات تأكسد، على سبيل المثال، أبدت خلاصة الزعتر البري قدرة عالية في تثبيط DPPH$^{\bullet}$ بما يقارب ضعف قدرة خلاصة الثوم الكسواني، إلا أن قدرتهما الإرجاعية للأيونات الحديد كانت مشابهة. كما أظهرت خلاصة الثوم قدرة متوسطة على تثبيط الـDPPH$^{\bullet}$ وإرجاع أيونات الحديد الثلاثية، فسر (Okada *et.al.*, 2005) الفعل المضاد للتأكسد لخلاصة الثوم بوجود مجموعة الأليل ($-CH_2CH = CH_2$) ومجموعة $-S(O)S-$ في المركبات التيوسلفونية thiosulfinates الموجودة في مستخلصات الثوم.

أبدت مستخلصات إكليل الجبل وفقاً لدراسة (Wojdyło *et al.*, 2007) قدرة على تثبيط DPPH$^{\bullet}$ بمقدار ضعف قدرة مستخلص الزعتر، هذا مايتوافق مع نتائج عمل (Cosio *et al.*, 2006). وتبيّن نتيجة الدراسة الإحصائية أنه لاتوجد علاقة واضحة بين محتوى الفينولات في المستخلصات عموماً وقدرتها المضادة للتأكسد، يلاحظ من الشكل السابق أن محتوى الفينولات في مستخلص الثوم الكسواني أقل من محتوى الفينولات في خلاصة إكليل الجبل إلا أن خلاصته تفوّقت في قدرتها على تثبيط الجذور الحرة وقدرتها الإرجاعية. يمكن أن يعزى هذا إلى اختلاف طبيعة وبنية المركبات الفينولية المستخلصة من النباتات العطرية.

- تقييم فعالية المستخلصات كمضادات للتأكسد في المايونيز

- **قيمة الـ** *p*H

لم تختلف قيمة pH_0 الوسط في عينات المايونيز المحضرة ($P > 0.05$)، إذْ لم تؤثر إضافة المستخلصات المختلفة إليها. يظهر الجدول (2) انخفاض قيمة حموضة الوسط مع زيادة مدة التخزين.

الجدول (2) تغير قيمة *p*H الوسط مع زيادة مدة التخزين

ΔpH	pH_e	pH_0	قيمة pH / العينة
1.50	3.00	4.50	A
0.05	4.30	4.35	B
0.20	4.30	4.50	C
0.34	4.36	4.70	D
0.10	4.30	4.40	E
0.25	4.20	4.45	F

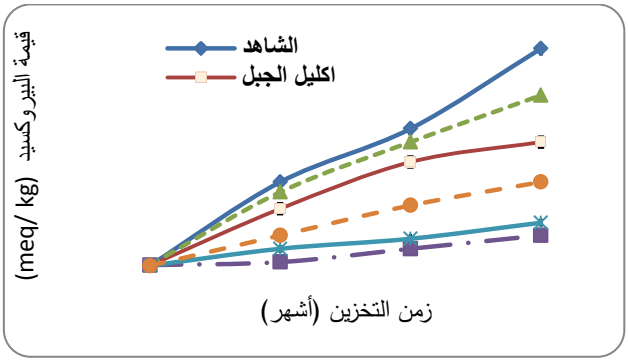
pH_0 قيمة حموضة المايونيز في الزمن صفر، pH_e قيمة حموضة المايونيز بعد الحضن مدة ثلاثة أشهر، التغيير في قيمة حموضة الوسط $\Delta pH = pH_0 - pH_e$

تناقصت قيمة *p*H الوسط بازدياد زمن التخزين عموماً، وتفاوتت قيم هذا التناقص بين (1.50-0.10) في عينات المايونيز المختلفة، وكانت نسبة الانخفاض الأعلى في العينة الشاهدة تلتها العينة المضاف اليها مستخلص النعناع، فالعينة المضاف إليها BHA، ثم العينة المضاف إليها مستخلص إكليل الجبل، ومن ثم العينة المضاف إليها الثوم، وأقل تناقص كان للعينة التي أضيف إليها الزعتر البري. يمكن أن يفسر هذا الانخفاض نتيجة لنشاط بكتيريا حمض اللاكتيك، التي تخفض قيمة *p*H الوسط في المايونيز خلال مدة التخزين أو نتيجة لنشاطات إنزيمية تنتج مركبات حمضية في أثناء التخزين (Marinescu *et al*., 2011).

قيمة البيروكسيد:

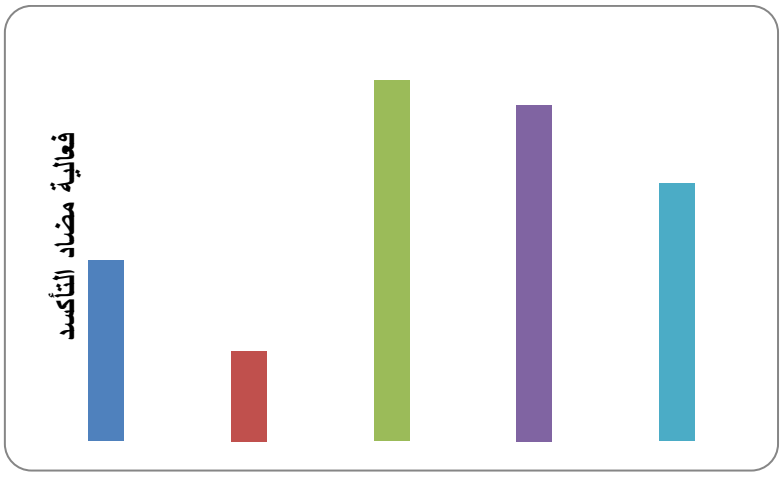
بَيَّنَ (Mc Clements and Decker, 2000) أن عملية تأكسد الدسم تتسارع من خلال التفاعلات التي تحدث على سطح قطرات مستحلب في الزيت في الماء. ويعتمد على تعيين الهيدروبيروكسيدات المتشكلة لتحديد سرعة تفاعل الأكسدة الابتدائية لأنها عادة ما تعدُّ منتجات أولية لعملية التأكسد (Rossell, 1986). أكد (Li Hsieh and Regenstein, 1992) أن قيمة البيروكسيد أفضل اختبار لمراقبة تأكسد الزيت في المايونيز . يبيّن الشكل (4) تزايد قيمة البيروكسيد خلال مدة الحضن. لوحظ ازدياد قيمة البيروكسيد لعينات المايونيز المدروسة تدريجياً مع ازدياد زمن التخزين، وراوحت القيم بعد تخزين العينات مدة ثلاثة أشهر بين (7-35) meq/kg. كانت قيمة البيروكسيد للعينة الشاهدة أكبر من قيمة البيروكسيد في عينات المايونيز المضاف إليها الكمية نفسها من أحد المستخلصات النباتية، ومن الـ BHA بعد نهاية مدة التخزين، في حين بلغت قيمة البيروكسيد للعينة الشاهدة خمسة أضعاف قيمة

البيروكسيد لعينات المايونيز المضاف إليها مستخلص الزعتر البري، وتقريباً أربعة أضعاف قيمة البيروكسيد لعينة المايونيز المضاف إليها مستخلص الثوم الكسواني.



(الشكل 4) تغير قيمة البيروكسيد مع ازدياد مدة الحضن

وعموماً كان تسلسل تزايد قيمة البيروكسيد بين العينات مختلفة الإضافات على النحو: الزعتر البري< الثوم الكسواني < BHA < إكليل الجبل < النعناع < الشاهدة؛ ممَّا يدل على امتلاك مستخلصات النباتات العطرية فعالية جيدة مضادة للتأكسد (الشكل (5)) وكلما ازدادت قيمة الفعالية كانت المادة المضادة للتأكسد أكثر فاعلية، وأن فعالية مستخلص كل من الزعتر والثوم تفوقت على فعالية مضاد التأكسد الصنعي BHA .

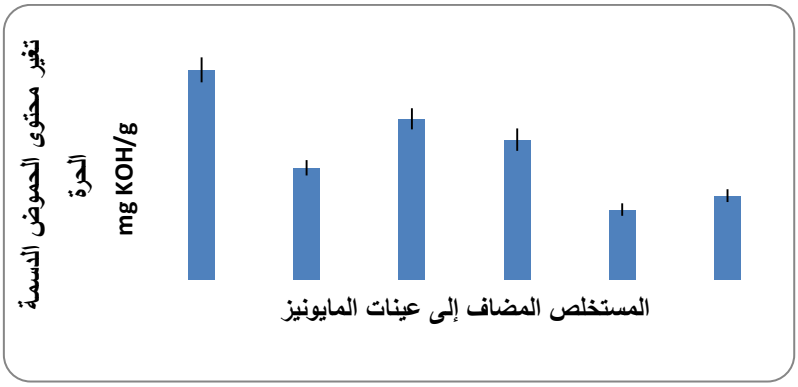


(الشكل 5) الفعالية المضادة للتأكسد للمستخلصات

علَّل (Kishk and Elsheshetawy, 2010) الفعل المضاد للتأكسد الذي ظهر في عينة المايونيز المضاف إليها مستخلص الزنجبيل إلى محتوى الفينولات فيه. يمكن أن يظهر الفعل المضاد للتأكسد للمركبات الفينولية في ثلاث آليات، إمَّا قطع سلسلة التأكسد، أو تفكيك الهيدروبيروكسيدات أوتعقيد المعادن (Frankel, 2005).

تعيين محتوى الحموض الدسمة الحرة:

غالباً مايترافق التزنخ مع تزايد تشكل الحموض الدسمة الحرة، يظهر الشكل الآتي مقدار تزايد الحموض الدسمة الحرة في عينات المايونيز المختلفة بعد انتهاء مدة التخزين (ثلاثة أشهر). يظهر الشكل (6) محتوى الحموض الدسمة الحرة في العينات المدروسة بعد انتهاء زمن التخزين.



(الشكل 6) تغير محتوى الحموض الدسمة الحرة باختلاف المستخلصات النباتية

المضافة إلى المايونيز بعد نهاية مدة الحضن:

وكانت أعلى نسبة تزايد في العينة الشاهدة، وأقل نسبة تزايد في عينة المايونيز المضاف إليها خلاصة الزعتر. وكان تسلسل تناقص الحموض الدسمة الحرة في العينات المخزنة ثلاثة أشهر على النحو الآتي:

الشاهدة > إكليل الجبل > النعناع > BHA > الثوم > الزعتر. وهذا يعني أن عينة المايونيز المضاف إليها مستخلص الزعتر والثوم أعاقت تشكل الحموض الحرة بشكل أفضل من بقية العينات، وهذا ما يؤكد أن مضادات التأكسد الطبيعية قادرة على إعاقة تأكسد الدسم بشكل أفضل من مضاد التأكسد الصنعي BHA (Pokorny, 1991).

الاستنتاجات Conclusions:

اختلفت مستخلصات النباتات العطرية المدروسة بمحتواها من الفينولات، وكذلك بقدرتها على تثبيط الجذور الحرة وقدرتها الإرجاعية، ولم توجد علاقة واضحة بين المحتوى الكلي للفينولات والقدرة على تثبيط الجذور الحرة. ووفقاً للفعالية المضادة للتأكسد؛ أظهرت نتائج هذه الدراسة أن إضافة أحد مستخلصات النباتات العطرية (الزعتر البري والثوم والنعناع وإكليل الجبل) بتركيز 200ppm إلى المايونيز يؤخر من تأكسد المواد الدسمة فيه، ومن ثَمَّ يزيد من العمر الافتراضي للمنتج. يمكن عَدُّ مستخلص كل من الزعتر البري والثوم مضاد تأكسد طبيعياً أفضل من مضاد التأكسد الصنعي (BHA) في تثبيط تأكسد الدسم أو تأخيره في المايونيز.

References

1. **Adegoke G. O. and Gopalakrishna A. G., 1998. Extraction and identification of antioxidants from the spice Aframomum danielli, *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, vol. 75, pp. 1047-1052.**
2. **AOAC, 1984. *Official Methods of Analysis (14th ed). Association of Official Analytical Chemists, Washington D. C*, 14th ed.**
3. **Bampidis, V.A.; Christodoulou, V.; Christaki, E.; Florou-Paneri, P.; Spais, A.B., 2005. Effect of dietary garlic bulb and garlic husk supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Anim. Feed Sci. Technol*., 121, 273–283.**
4. **Collin, H., 2006. Herbs, spices and cardiovascular disease. In Handbook of Herbs and Spices; Peter, K.V., *Ed.; Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK*, Volume 3, pp. 126–137.**
5. **Cosio M.S., Buratti S., Mannino S., Benedetti S., 2006. Use of an electrochemical method to evaluate the antioxidant activity of herb extracts from the Labiatae family. *Food Chem*. 97,725-731.**
6. **Cunningham, F. E., 1995. Egg product pasteurisation. In Stadelman, W. J. & Cotterill, O. J. (Eds.), *Egg Science and Technology .New York: Haworth Press,*pp. 289–321.**
7. **Duke, J., 2002.Handbook of Medicinal Spices; *CRC Press: Boca Raton, FL*, USA.**
8. **Duthie, G.G.; Brown, K.M., 1994. Functional foods. In Reducing the Risk of Cardiovascular Disease; Goldberg, I., Ed.; *Chapman & Hall: London, UK*; pp. 19–38.**
9. **Ebrahimzadeh MA, Pourmorad F and Hafezi S.,2008 . Antioxidant activities of Iranian corn silk. Turk. J. Biol., 32 : 43-49.**
10. **Elgayyar, M.; Draughon, F.A.; Golden, D.A.; Mount, J.R., 2001. Antimicrobial activity of ssential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J. Food Protect*. 64 , 1019–1024.**
11. **Frankel, E.N.,1993. In search for better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. *Trends Food Sci. Technol*. 4, 220–225.**
12. **Guilmineau, F., Kulozik, U.,2007 . Influence of a thermal treatment on the functionality of hen's egg yolk in mayonnaise, *Journal of Food Engineering* ,78 ,pp. 648–654.**
13. **Kadri, A.; Zarai, Z.; Chobba, I.B.; Bekir, A.; Gharsallah, N.; Damak, M.; Gdoura, R., 2011. Chemical constituents and antioxidant properties of Rosmarinus officinalis L. essential oil cultivated from South-Western Tunisia. *J. Med. Plants Res*, 5, 5999–6004.**

14. **Kishk, Y.F.M., Elsheshetawy, H.E., 2010. Optimization of ginger (Zingiber officinale) phenolics extraction conditions and its antioxidant and radical scavenging activities using response surface methodology. *World J. Dairy Food Sci*. 5, 188–196.**
15. **Le Denmat, M., Anton M., and Gandemer G. 1999. Protein denaturation and emulsifying properties of plasma and granules of egg yolk as related to heat treatment . *J. Food Sci*. 64:194-197.**
16. **Leelarungrayub N., Rattanapanone V., Chanarat N., Gebicki J.M., 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutrition* 22, 266-274.**
17. **Li Hsieh, Y.T., Regenstein, J.M., 1992. Storage stability of fish oil, soy oil, and corn oil mayonnaises as measured by various chemical indices. *J. Aquat. Food Prod. Technol*. 1, 97–106 .**
18. **Li, T.S.C., 2006. The range of medicinal herbs and spices. In Handbook of Herbs and Spices; Peter, K.V., Ed.; *Woodhead Publishing Limited: Cambridge, UK*; Volume 3, pp. 13–125.**
19. **Madsen, H.L.; Bertelsen, G., 1995. Spices as antioxidants. *Trends Food Sci. Technol*, 6, 271–277.**
20. **Marinescu, G., Stoicescu, A., Patrascu, L., 2011. The preparation of mayonnaise containing spent brewer's yeast β- glucan as a fat replacer. *Romanian Biotechnol. Lett*. 16, 6017–6025.**
21. **Mc Clements, D.J., Decker, E.A., 2000. Lipid oxidation in oil-in water emulsions: impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J. Food Sci*. 65, 1270–1282.**
22. **Milner, J.A., 1994. Functional foods. In Reducing the Risk of Cancer; *Goldberg, I., Ed.; Chapman & Hall: London, UK*; pp. 39–70.**
23. **Nabavi SM., Ebrahimzadeh MA., Nabavi SF., Fazelian M. and Eslami B., 2009. In vitro antioxidant and free radical scavenging activity of Diospyros lotus and Pyrus boissieriana growing in Iran. *Pharmacognosy Magazine*, 4(18): 123-127.**
24. **Negi, P.S., . 2012. Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *Int. J. Food Microbiol*. 156, 7–17.**
25. **Nencini C., Cavallo F., Capasso A., Franchi G.G., Giorgio G., Micheli L., 2007. Evaluation of antioxidative properties of Allium species growing wild in Italy. *Phytotherapy Res*. 21, 874-878.**
26. **Ocak, N.; Erener, G.; Burak, A.F.; Sungu, M.; Altop, A.; Ozmen, A., 2008. Performance of broilers fed diets supplemented with dry peppermint**

(Mentha piperita L.) or thyme (Thymus vulgaris L.) leaves as growth promoter source. ***Czech J. Anim. Sci*****, 53, 169–175.**

27. **Okada Y, Tanaka K, Fujita I, Sato E. and Okajima H:, 2005. Antioxidant activity of thiosulfinates derived from garlic.** ***Redox Rep*****,10(2): pp. 96–102.**
28. **Pearson D., 1991. The Chemical analysis of foods. New** ***York: Chemical Publishing Company*****.**
29. **Perumalla, A.V.S.; Hettiarachchy, N.S., 2011. Green tea and grape seed extracts—Potential applications in food safety and quality.** ***Food Res. Int.*****, 44 , 827–839.**
30. **Pokorny, J., 1991. Natural antioxidants for food use.** ***Trends Food Sci. Technol*****., 2, pp. 223-227.**
31. **Rossell, J.B., 1986. Classical analysis of oils and fats. In: Hamilton, R.J., Rossell, J.B. (Eds.), Analysis of Oils and Fats.** ***Elsevier Applied Science Publishers, New York*****, pp. 1–90.**
32. **Sasaki, K., Matsumoto, I., Beppu, M. ,1991, Cyanogen bromide treatment. In Affinity Chromatography;** ***Tokyo Kagaku Dojin: Tokyo*****, pp. 117-130.**
33. **Singleton, L., Orthofer R., and Lamuela-Ravents R., 1999. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation substrates and antioxidants by means of folin- ciocalteu reagent.** ***Methods in enzymology.*** **299: 152-178.**
34. **Tiwari, S., 2008. Plants: A rich source of herbal medicine.** ***J. Nat. Prod.*****, 1, 27–35.**
35. **Windisch, W.; Rohrer, E.; Schedle, K., 2009. Phytogenic feed additives to young piglets and poultry: Mechanisms and application. In Phytogenics in Animal Nutrition: Natural Concepts to Optimize Gut Health and Performance; Steiner, T., Ed.;** ***Nottingham University Press: Nottingham, UK*****, pp. 19–38.**
36. **Wojdyło A., Oszmianski J, Czemerys R., 2007. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs.** ***Food Chem*****. 105, 940-949.**