أستخلاص الزيوت العطرية من الزعتر *Thymus vulgaris* والينسون النجمي*Illicumverum* وقياس فعاليتها المضادة للأكسدة وتشخيص المركبات الفعالة فيها بتقنية GC-MS

زينة كاظم عيسى اليونس

قسم علوم الأغذية-كلية الزراعة-جامعة البصرة-جمهورية العراق

المستخلص

استخلصت الزيوت العطرية في هذه الدراسة من الزعتر والينسون النجمي باستعمال جهاز الكلافنجر وكانت نسب الأستخلاص للزيوت العطرية 2.4% و4.5% على التوالي، درست الصفات الفيزيائية للزيوت المستخلصة وكانت قيم معامل الأنكسار للزيوت العطرية المستخلصة1.4952 و1.5584 على التوالي، كما كانت ألوان الزيوت العطرية المستخلصة اصفر ذهبي واصفر باهت على التوالي وكان طعم زيت الزعتر حار حارق وطعم زيت الينسون النجمي حلو،كما اظهرت الزيوت العطرية ذوبان كلي في الكحول وعديمة الذوبان في الماء.

شخصت المركبات الكيميائية الفعالة الموجودة في الزيوت العطرية باستخدام تقنية GC-MS ووجد ان زيت الزعتر يحتوي على29 مركباً وأهم هذ المركبات Thymolالذي تواجد بأعلى تركيز اذ بلغت نسبته 54.87% ، و وجد ان زيت الينسون النجمي يحتوي على19 مركباً وأهم هذ المركباتAnethol الذي تواجد بأعلى تركيز إذ بلغت نسبته 88.19%.

قيست الفعالية المضادة للأكسدة لتراكيز مختلفة من الزيوت العطرية(الزعتروالينسون النجمي) وأظهرت الدراسة بأن الفعالية المضادة لأكسدة حامض اللينوليك للزيوت العطرية قد ازدادت مع زيادة تركيز الزيت العطري وكان تركيز 100 %قد حقق أعلى قيمة من الفعالية المضادة للأكسدة بلغت 91.17% و83.54%على التوالي.

أضيفت الزيوت العطرية لاقراص اللحم البقري بنسبة (0.1، 0.5، 1)% والمخزنة بالتبريد على درجة 4مْ ولمدة 15يوما، إذ انخفضت قيم البيروكسيد بزيادة تراكيز المستخلصات في اقراص اللحم.

كلمات مفتاحية:زعتر ،ينسون نجمي،الفعالية المضادة للأكسدة

تاريخ الاستلام : 10- 5-2017
تاريخ القبول : 3- 6 -2017

المقدمة

تعـد الأكسـدة مـن العمليـات التـي تحـدث فـي خلايـا الجسـم والتـي تـؤدي الـى تحطـيم مختلـف المـواد البايلوجيـة ومـن ثـم تسـبب العديـد مـن الأمـراض مثـل السـرطان، امـراض الكـبد، مـرض الزهايمـر(الخـرف)،الشيخـوخة المبـكرة، التهـاب المفاصـل، الألتهابات،السـكري،مـرض باركينسـون وتصـلب الشـرايين(28) ، مـن الممكـن منـع حـدوث الأكسـدة عـن طريـق أسـتخدام مضـادات الأكسـدة التـي تسـتطيع اخمـاد الجـذور الحـرة وبالتـالي تمنـع الأصابـة بالأمـراض الأنتكاسـية(24) ونظـراً للاثـار الجانبيـة المختلفـة عـند الأسـتخدام الواسـع لمضـادات الأكسـدة الـصناعية مـثل BHT(Butylated hydroxyl toluane) و BHA(Butylated hydroxyl anisol) كونهـا تمتلـك تـأثيرات مسـرطنة علـى الكائنـات الحيـة(29)لـذلك مـن المهـم جـداً ايجـاد مصـادر جديـدة ،امنـة ،غيـر مكلفـة وغنيـة بـالمواد المضـادة للأكسـدة والتـي تكـون طبيعيـة المنشـأ. أشـارت العديـد مـن الدراسـات ان الزيـوت العطريـة المستخلصـة مـن النباتـات يمكـن ان تكـون مصـدر بـديل لمضـادات الأكسـدة الصـناعية ومـن هـذه الزيـوت العطـرية زيـت الزعـتر وزيـت الينسـون النجمـي(11,38و34).

الـزعـتـر *Thymus vulgaris* نبـات ينتمـي للعـائـلـة الشـفـويـة Lamiceae وهـو شجيـرة ذات رائحـة زكيـة دائمـة الـخضرة تنمـو فـي عـدة مناطـق بالعـالم(17)، أسـتعمل نـبات الزعتـر منـذ العصـور القديمـة لأضـافة نكهـة لـلأجبـان (8) ولـلـحوم الأرنـب، الـخنزيـر والـحـمـل (16)، بالأضـافة الـى انـه يسـتعمل للتـداوي بالأعشـاب لعـلاج داء الثعلبة،تكلسـات الأسـنان،الألتهابات الجلديـة ،التهابـات القصـبة الهوائيـة ،السـعال،امراض الجلـد الألتهابيـة واضـطرابات الجهـاز الهضـمي (12) وكمطهر،طـارد للغـازات وكمضاد للمكروبات ومضاد للأكسدة (11).

يعـد زيـت الزعتـر مـن بـين افضـل عشـر زيـوت عطريـة فـي العـالم تسـتعمل كمضـافات غذائيـة (34) ،تبلـغ نسـبة الزيـوت الـعطرية فـي الزعتـر مـن 0.32-4.9%(15) ،Thymol وCarvacrol همـا مـن المركبـات الفينوليـة الأساسـية فـي زيـت الزعتـر امـا المركبـات غيـر الفينوليـة السـائدة فيـه همـا Linalool و (20P-Cymene و10).

الينسـون النجمـي *Illicumverum* عبـارة عـن ثمـرة علـى شـكل نجمـة صـغيرة لنبـات دائـم الخضـرة مـن عائلـة (38)Illiciaceae وهـو مـوزع بصـورة اساسـية فـي المنـاطق الأسـتوائية وشـبه الأسـتوائية فـي قـارة اسـيا ،ثمـاره تسـتعمل

بكثـــرة كتوابـــل فـــي الصـــناعات الغذائيـــة وكمستحضـــرات دوائيـــة لعـــلاج الام المعـــدة ،المغـص،الام التشـنجات وطـرد الغـازات ، كمـا ان زيـت الينسـون النجمـي يسـتعمل كمستحضـر موضـعي لعـلاج الروماتيزم ،الـم الاذن وكمعقـم (25و18) و اشـارت العديـد مـن الدراسـات السـابقـــة ان الـزيـــت الـعطـــري للينســـون النـجمـــي يـمتلـــك خصـــائص قـاتلـة للـحشـرات ومضـــادة لـلمكـــروبات ومضـــادة للأكســـدة(33) وان المكونـات الأساسـية للزيـت العطـري للينسـون النجمـي هـي,Limonene, Linalool Anethole، α_Pinene(37).

هدفت هذه الدراسة الى :

1-أسـتخلاص الزيـت العطـري مـن الزعتـر والينســون النجمـــي لمحاولـــة الاســـتفادة منـــه كمصـــدر طبيعـــي لمضـــادات الأكسـدة ومقارنـة فعاليتها بمضاد الأكسدة الصناعي BHT .

2- تشـخيص المركبـات الكيميائيـة الموجـودة فـي الزيوت العطرية بتقنية إلGC-MS.

3- تطبيـق إضـافة الزيـوت العطريـة فـي أقـراص اللحـم البقـري المحفـوظ بالتبريـد ودراسـة تأثيرهـا المضادة للأكسدة.

مواد وطرائق العمل

العينـــات:تم الحصـــول علـــى اوراق نبـــات الزعترالمجففـــة مـــن الســـوق المحليـــة لمدينـــة البصـرة وتـم تنظيـف العينـات وسـحقها وطحنهـا بمطحنـة كهربائيـة وحفظـت فـي قنـاني زجاجيـة لحين الأستعمال.

اســتخلاص الزيـــت العطـــري:تم اســـتخلاص الزيـــت العطـــري بطريقـــة التقطيـــر المـــائي *Hydrodistillation*بإسـتخدام جهـاز التقطيـر الكلافنجـــر *ApparatuGlevenger*وكمـــا ورد في حسين(5)و رومو (6) .

نسـبة الحاصـل للزيـت المسـتخلص: قـدرت النسـبة المئويـة للزيـت العطـري المسـتخلص مـن الزعتـــر بعـــد إن اخـــذ وزن العينـــة قبـــل الاســـتخلاص و وزن الزيـــت المســـتخلص وحسبت النسبة كالأتي :

نســـبة الحاصـــل= وزن الزيـــت/وزن العينة × 100

قياس الصفات الفيزيائية :

1_معامل الانكسار

قـــيس معامـــل الانكســـار للزيـــت العطـــري المسـتخلص مـن الزعتـر عنـد درجـة حـرارة 20 م بجهاز Abbe

Refractometer والمصـنع فـي أنكلتـرا وفـق الـطريـــقة الـــواردة فـــي الجمعيـــة الأمريكيـــة لكيميـــائي الزيـــوت.A.O.C.S(9). وحســـب المعادلـة التاليـة :- $R = \acute{R} + K(\acute{T} - T)$

R: القراءة المصححة لمعامل الانكسار

Ŕ: قراءة معامل الانكسار عند درجة 33 م

T: درجة الحرارة القياسية المطلوبة

$\acute{T}$: درجــة الحــرارة التــي عنــدها أخــذت القــراءة R

K: ثابت مقداره 0.000385 للزيوت السائلة

2- لون وطعم الزيوت العطرية قيد الدراسة:

قــيس لــون الزيــوت العطريــة بالاعتمــاد علــى العــين المجــردة واجــري تقيــيم حســي لتحديــد طعم الزيوت العطرية من قبل عشرة محكمين مــن منتســبي قســم علــوم الأغذيــة والتقانــات الإحيائية في كلية الزراعة - جامعة البصرة.

3-قابيلــة ذوبانيــة الزيــوت العطريــة فــي المــذيبات العضوية و الماء

قيســت الذوبانيــة للزيــوت العطريــة وذلكبأذابتهــا بالايثــانول ،الميثانول،الهكســان،الأيثرو المــاء (نســبة حجــم الــى حجــم)(1:1) وبعدها لوحظت قابليتها للذوبان (4)

تشخيصــالمركبات الفعالــة فــي الزيــوت العطريــة قيد الدراسة:

تــم تشــخيص المركبــات الفعالــة فــي الزيــوت العطريــة قيــد الدراســة باســتعمال جهــاز كرموتــوكرافي الغــاز المتصــل بمطيــاف الكتلــة نــوعJAPANSHIMADZU , ، QP2010 UltraGC-MS،اســتعمل عمــود شــعري ذو فلــم بسـمك (50 µm) لغـرض الفصـل، وكانـت درجـة حـرارة الفـرن الأوليـة Column Oven Temp. 40 م° ودرجــة الحــرارة النهائيــة 280 م°. ولغــرض المحافظــة علــى درجــة حــرارة البرنــامج ثبتــت لمــدة 1 دقيقــة عنــد حــرارة 120 م° ومعــدل الارتفــاع فــي درجــة الحــرارة 8 م°/ دقيقــة الــى ان تصــل الــى 210م° ثــم تثبــت لمــدة 45 دقيقــة عنــد 210م°. وحجــم العينــة اللازمــة للــزرق 1 مــايكروليتر، ودرجــة حــرارة منطقــة الــزرق .(Injection Temp280 م°) ودرجــة حــرارة المكشــاف (280 م°). الغــاز الحامــل هــو الهليــوم عنــد ضــغط Pressure ثابــت بحــدود 96.1 kPa، معــدل جريــان الغــاز الحامــل فــي العمــود Column Flow هــو 1.71 مــل / دقيقة.(35)

قياس الفعالية المضادة للأكسدة:

قــدرت الفعاليــة المضــادة للأكســدة للزيــوت العطريــة قيــد الدراســة باســتعمال نظــام الحــامض الــدهني اللينوليــك Linoleic acid المقتــرح مــن Osawaو Namiki(30) . حضــرت تراكيــز مــن المستخلصــات النباتيــةو مضــاد الأكســدة الصــناعي تراوحــت (0-120 ملغــم.مــل-1) والمذابــة فــي الكحــول الأثيلــي 98%. بعــدها حضــر خلــيط يتكــون مــن 4.1 مــل حــامض اللينوليــك (تركيــزه 2.5% ايثــانول) و 4 مــل مــن كــل مســتخلص و8 مــل مــن محلــول مــنظم الفوسـفات 0.05 مـولاري وبـرقم هيـدروجيني 7 و 3.9 مــل مــاء مقطــر، حضــن الخلــيط فــي عبــوات معتمــة محكمــة الغلــق بحــرارة 40°م لمــدة 24 ســاعة. قــدرت درجــة الاكســدة بطريقــة الثايوســيانات (Thiocyanate) وتــتلخص الطريقــة بإضــافة 0.1 مــل مــن هــذا الخلــيط إلــى

9.7 مــل إيثــانول (تركيــزه 75%) و0.1 مــل ثايوســينات الامونيــوم (تركيــزه 30%) وبعــد ثــلاث دقــائق اضــيف0.1 مــل كلوريــد الحديــدوز (تركيــزه 20 ملــي مــولاري محضــر فــي 3.5% حــامض الهيــدروكلوريك) ثــم قــيس الامتصــاص علــى طــول مــوجي 500 نــانومتر، حسبت النسبة المئويــة لتثبــيط بيروكســيدات الحــامض الــدهني اللينوليك تبعاً للمعادلة الآتية:

$$\% \text{ الفعالية المضادة للأكسدة} = 1- \left[\frac{\text{قراءة الامتصاص للنموذج}}{\text{قراءة الامتصاص للعينة الضابطة}} \right] \times 100$$

حضــر نمــوذج العينــة الضــابطة بــنفس الطريقــة أعــلاه باســتثناء خلــط 4 مــل إيثــانول بــدلاً مــن الزيت العطري

تقيــيم اداء الزيــوت العطريــة كمضــادات للأكسدة في منتوج أقراص اللحم البقري:

فــرم اللحــم البقــري بواســطة ماكنــة الفــرم الكهربائيــة وأضــيف اليــه الشــحم بنســبة 10%(وزن/وزن)وخلــط مــع الشــحم لغــرض التجــانس، أضــيف الملــح بنسـبة2%(وزن/وزن)الـى نـاتج اللحـم المفـروم، بعــدها قســم اللحــم الــى عــدة معــاملات عملــت بــثلاث تراكيــز مختلفــةمن الزيــوت العطريــة 1,0.5,0.1ملغــم .100غــم-1 لحــم وحضــرت عينــة المقارنةالمتمثلــة بمضــاد الأكســدة الصــناعيBHT بنســبة 0.02% ملغــم.100 غــم-1 وحضــر نمــوذج مــن اللحــم بــدون أي إضــافة (عينــة الســيطرة).عملت أقــراص اللحــم بــوزن 10 غــم للقــرص الواحــد وعبئــت فــي أكيــاس النــايلون وغلقــت جيــدا وحفظــت بالثلاجــة بحرارة 4ºم لمدة 15 يوما (3).

رقم البيروكسيد : Peroxide value

قــدر رقــم البيروكســيد كمــا ورد فــي Pearson(31)لأقــراص اللحــم وبمــدة زمنيــة بلغــت 15 يومــا إذ قــيس رقــم البيروكســيد كــل 5 ايــام وحســب الأتــي: أخــذ 1 غــم مــن اللحــم ووضــع فــي دورق مخروطــي يحتــوي علــى 30 مــل مــزيج حــامض الخليــك الثلجــي 60 : كلوروفــورم 40 وأضــيف إليــه 3 مــل مــن محلــول يوديــد البوتاســيوم المشــبع ثــم اقفــل الــدورق وحــرك حركــة دائريــة حتــى يــذوب الزيــت ووضــع فــي مكــان مظلــم لمــده 20-25 دقيقــة بعــد ذلــك أضــيف إلــى محتويــات الــدورق 20 مــل مــاء مقطــر وتــم معادلــة اليــود المنفــرد بمحلــول ثايوســلفات الصــوديوم 0.01 عيــاري حتــى الوصــول إلــى ماقبــل نقطــة التعــادل بــاللون الأصــفر الباهــت ثــم أضــيف إليــه 2-3 مــل محلــول النشــا 1% وســحح حتــى الوصــول إلــى نقطــة النهايــة بــزوال اللــون الأزرق ثــم حســب رقــم البيروكســيد مــن المعادلــة التالية

حجم ثايوسلفات الصوديوم(مل)× العيارية × 1000

رقم البيروكسيد= ——————————————

وزن النموذج(غم)

النتائج والمناقشة

يبين الجدول(1) نسبة الحاصل للزيوت العطرية المستخلصة بطريقة التقطير البخاري من نباتي الزعتر واليانسون النجمي والتي بلغت 2.4% لزيت الزعتر وجاءت هذه النسبة مطابقة لنسبة الحاصل التي حصل عليها Golmakaniو Rezaei(19) والتي بلغت 2.39%،كما ان هذه النسبة مقاربة للنسبة التي حصلت عليها الحديثي(2) والتي كانت 2.63% وانها ضمن مدى محتوى الزعتر من الزيت العطري الذي ذكرهCarlen واخرون(15) والذي كان 0.32_4.9%.اما نسبة الحاصل لزيت الينسون النجمي فبلغت 4.5% وهذه النسبة اقل من النسبة التي حصل عليها Qin واخرون(32) والتي كانت 8.2%.

يوضح الجدول (1) قيم معامل انكسار الزيوت العطرية قيد الدراسة اذ بلغ معامل انكسار زيت الزعتر 1.4952 وهي تتفق مع ماوجده Golmakaniو Rezaei (19) التي كانت1.5030، كما ان هذه القيمة مطابقة لقيمة معامل انكسار زيت الزعتر التي ذكرها ابو زيد(1) التي كانت 1.4934.اما قيمة معامل انكسار زيت الينسون النجمي فكانت 1.5584 وهي مقاربة لما وجده Tuan وIlangantileke(36) التي كانت 1.5553 ولما وجده Yadavواخرون (39) التي بلغت 1.5500.

جدول (1): نسبة الحاصل وبعض الصفات الفيزياوية للزيوت العطرية قيد الدراسة

نسبة الحاصل والصفات الفيزيائية	زيت الزعتر	زبت الينسون النجمي
نسبة الحاصل%	2.4	4.5
معامل الأنكسار	1.4952	1.5584
اللون	اصفر ذهبي	اصفر شاحب
الطعم	حار حارق	حلو

و يبين الجدول (1) لون وطعم الزيوت العطرية قيد الدراسة والتي كانت اصفر ذهبي وطعم حار حارق لزيت الزعتر واصفر باهت وطعم حلو لزيت

الينســـــون النجمـي وهـو مطابـــق لمـا وجـده Yadav واخرون(39).

تشـير نتـائج الجـدول(2) قابليـة ذوبـان الزيـوت العطريـة قيـد الدراسـة فـي عـدة مـذيبات عضـوية والمـاء وقـد اعتمـدت عمليـة الأذابـة علـى أنـواع الزيـت العطـري والكحـول المسـتخدم للأذابـة ، وقـد لـوحظ ذوبـان الزيـوت العطريـة ذوبانـا تامـا فـي المـذيبات العضـوية (الكحـول) أمـا المـاء فقـد تعـذر الـذوبان فيـه وذلـك لأحتـواء الزيـوت العطريـة علـى مركبـات هيدروكاربونيـة ، ان صـفة الإذابـة التامـة للزيـوت العطريـة فـي الكحـول تـدلعلى مـدى نقـاوة الزيـت وعـدم غشـه وعـدم احتـواءه علـى مـواد الغـش المختلفـة (1) وان الزيـوت العطريـة المستخلصـة فـي الدراسـة كانـت درجـة ذوبانيتهـا تامـة فـي الكحـول دلالـة علـى نقاوتهـا وعـدم احتواءهـا علـى مـواد أخـرى تسبب عدم ذوبانها في الكحول.

جدول(2): قابلية الذوبان للزيوت العطرية قيد الدراسة في المذيبات العضوية و الماء

الزيت	المذيبات	الذوبانية
الزعتر	ايثانول	يذوب
	ميثانول	يذوب
	هكسان	يذوب
	أيثر	يذوب
	ماء	لا يذوب
الينسون النجمي	ايثانول	يذوب
	ميثانول	يذوب
	هكسان	يذوب
	أيثر	يذوب
	ماء	لا يذوب

توضـح النتـائج فـي الجـدول(3) والشـكل (1) المركبـات الكيميائيـة المفصـولة بطريقـة GC-MS لزيـت الزعتـر والتـي بلـغ عـددها 29 مركبـاً وأهـم هـذ المركبـات Thymolالـذي تواجـد بـأعلى تركيـز فـي الزيـت العطـري للزعتـر حيث بلغـت نسـبته 54.87% وهـي مقاربـة للنسـبة التـي حصـل عليهـا Agili(7) والتـي كانـت 54.26%،وهـي اكثـر مـن النسـبة التـي حصـل عليهـا Golmakaniو Rezaei(19) والتـي كانت37.20%.

و نجـد ان نسـبة كـل مـن P-Cymeneو-D Limonene بلغـت 16.45%،1.2% علـى التـوالي وهـي نسـب مقاربـة لمـا وجـده Miladiواخـرون (26) والتـي كانـت

18.08% ،0.85% علـــى التـــوالي ونجـــد ان نســـبة Y-Terpinen بلغـــت 10.05% وهـــي اقـل ممـا وجـده Miladiواخـرون (26) التـي كانـت 13.12% ،كمـا ان نسـبة كـلاً مـن P-Cymen وY-Terpinen كانـت مقاربـة لمـا وجـــده Golmakaniو Rezaei(19) التـــي كانت16.85% و9.06% على التوالي.

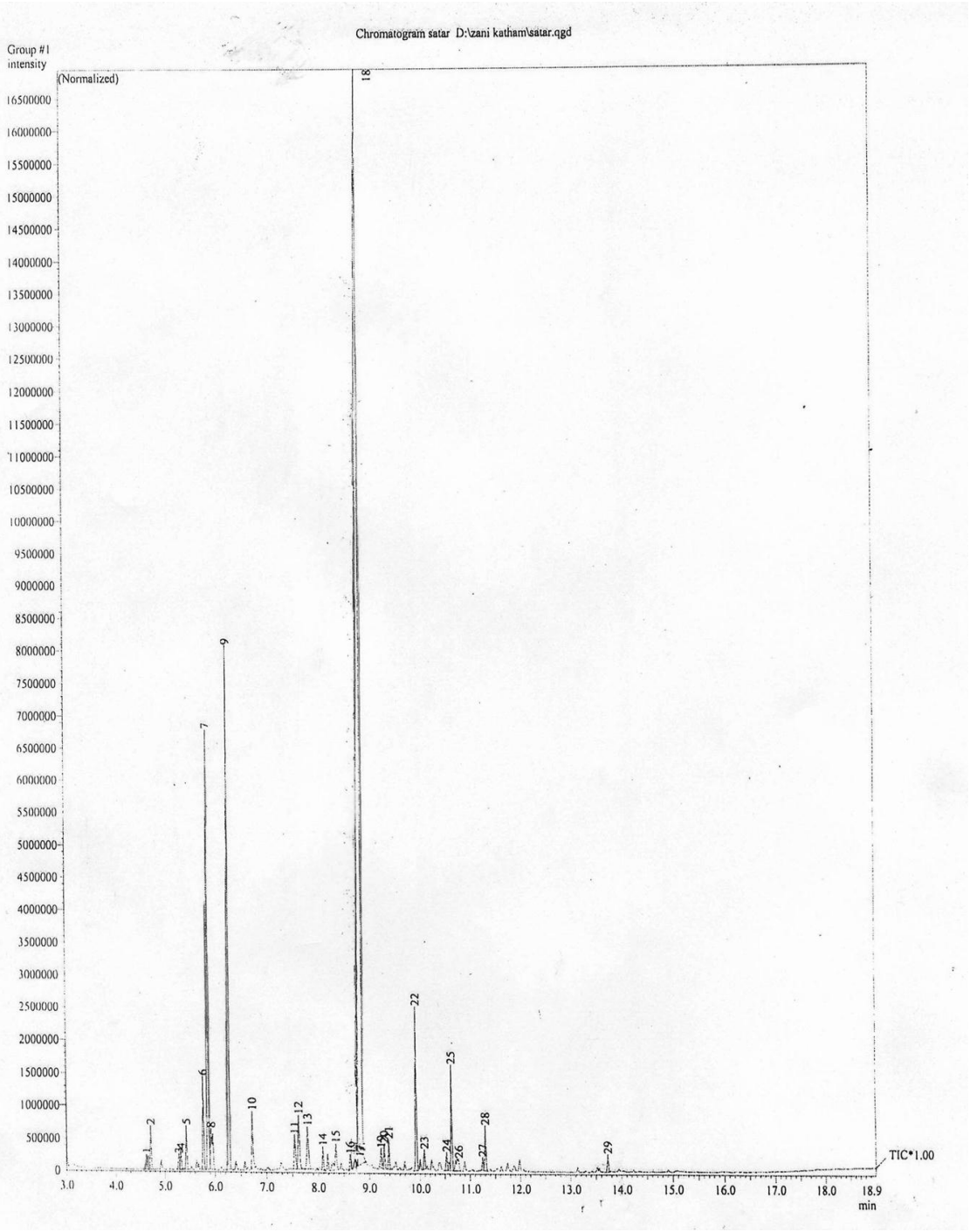
ان نسـبة كـلاً مـن Thymol و P-Cymen تقـع ضـمن المـدى الـذي ذكـره Burt(14) الـذي كـان 10-64% لـلThymol ومـن 10-56% لـل-P Cymen.

نلاحـظ ايضـاً ان مركـب Carvacrol بلغـت نسـبته 3.82% وهـي مقاربـة لمـا وجـده Grigor واخـرون (21) التـي كانـت 3.37% وهـــي اقـــل ممـــا وجـــده Golmakaniو Rezaei(19) التـــي كانـــت 6.81%.وان نســـبة Terpineol كانـــت 1.10%وهـي مقاربـة لمـا وجـده Agili (7) والتي بلغت 1.37%.

تبـين النتـائج فـي الجـدول(4) والشـكل (2) المركبـات الكيميائيـة المفصـولة بطريقـة GC-MS لزيـت الينسـون النجمـي والتـي بلـغ عـددها 19 مركبـاً ومـن هـذه النتـائج يتضـح إنمركـبAnethol قـد تواجـد بـأعلى تركيـز فـي الزيـت العطـري للينسـون النجمـي إذ بلغـت نسـبته 86.88% وهـي مقاربـة للنسـبة التـي حصـل عليهـاHuangواخـرون(22) وYadavواخـرون (39) التـي كانـت 89.5% و90.43% علـى التـوالي، هـي اكثـر مـن النسـبة التـي حصـل عليهـا Zhang واخـرون(40) التي بلغت 75.76%.

كمـا نلاحـظ ان نسـبة كـلاً مـن anisaldehyde، linalool وlimonene كانـت 6.58%،0.81% و1.03% علـى التـوالي وهـي مقاربـة لمـا حصـل عليـه Zhangواخـرون(40) التـي كانـت 8.65%،1.44% و3.26% علـى التـوالي ،كمـا ان نسـبة linalool وlimonene كانـت مقاربـة لمـا وجـده Huangواخـرون(22) التـي كانـت 0.3%،0.4% علـى التـوالي، بينمـا كانـت نسـبة anisaldehyde اكثـر ممـا وجـده Yadavواخرون(39) التي بلغت 2.1%.

يوضـح الشـكل (3) نتـائج قيـاس الفعاليـة المضـادة للأكسـدة لتراكيـز مختلفـة مـن الزيـوت العطريـة المسـتخدمة فـي هـذه الدراسـة (الزعتـر ، االينسـون النجمـي) ومقارنتهـا مـع مضـاد الأكسـدة الـBHT،اذ يتضـح مـن خـلال النتـائج بـان الفعاليـة المضـادة لأكسـده حـامض اللينوليـك للزيـوت العطريـة المستخلصـة قـد ازدادت مـع زيـادة تركيـز الزيـت العطـري وكـان تركيـز 100% قـد حقـق أعلـى قيمـة مـن الفعاليـة المضـادة للأكسـدة اذ بلغـت 91.17 ، 83.54 % لزيـت الزعتـر والينسـون النجمـي علـى التوالي.كمـا بينـت النتـائج إن فعاليـة زيـت الزعتـر المضـادة للأكسـدة كانـت أكثـر مقارنـة بزيـت الينسـون النجمـي وهـي مقاربـة للفعاليـة المضـادة للأكسـدة لـل BHT وتـأتي هـذه النتـائج متوافقة مع ما ذكره العديد من الباحثين حول



شكل(1): كروموتوكرامGC-MS للزيت المستخلص من الزعتر قيد الدراسة

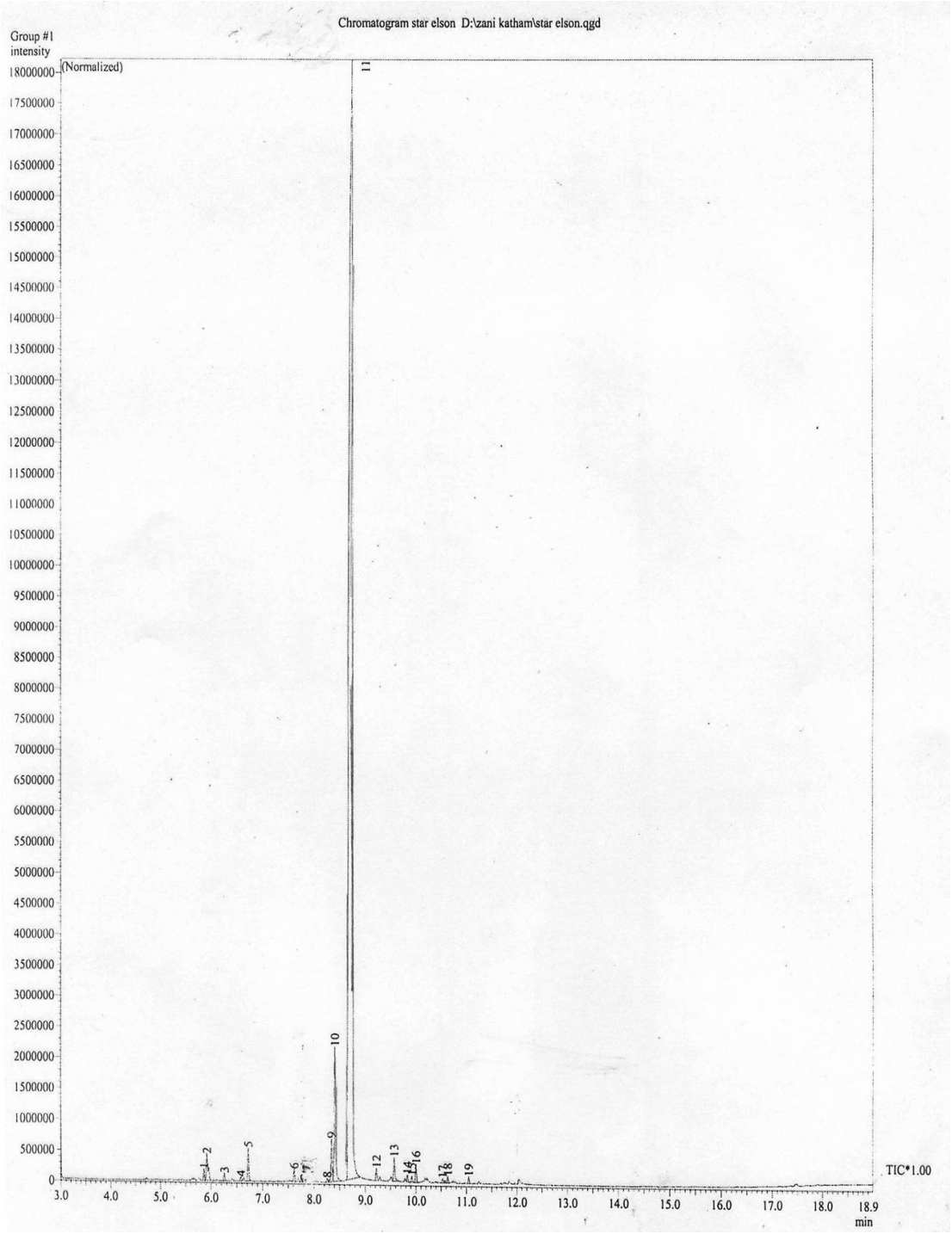
جدول (3): المركبات المفصولة بتقنيةGC-MS ونسبها في زيت الزعتر قيد الدراسة

Peak	R.Time	Area%	Name
1	4.624	0.23	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-
2	4.717	0.68	.alpha.-Pinene
3	5.281	0.24	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-
4	5.323	0.29	Guanosine, N,O,O,O,O-pentakis(trimethylsilyl)-
5	5.434	0.64	. beta.-Myrcene
6	5.769	1.35	(+)-4-Carene
7	5.866	16.45	P-Cymene
8	5.921	1.20	Limonene
9	6.268	10.05	Y-Terpinene
10	6.725	0.89	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-
11	7.544	0.68	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 1,7,7-trimethyl-, (1S-endo)-
12	7.623	1.10	4-Terpineol
13	7.794	0.98	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
14	8.091	0.34	Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl)-
15	8.344	0.71	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S)-
16	8.625	0.28	3-Methyl-4-isopropylphenol
17	8.700	0.11	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
18	8.847	54.87	Thymol
19	8.847	0.30	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, acetate
20	8.847	0.36	3-Allyl-6-methoxyphenol
21	9.383	0.41	Phenol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, acetate
22	9.926	2.32	Carvacrol
23	10.088	0.34	1H-Cycloprop[e]azulene, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-
24	10.532	0.32	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydro-

			1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.a
25	10.634	1.61	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-
26	10.775	0.57	Cyclopropanecarboxylic acid, 1-(phenylmethyl)-, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylp
27	11.249	0.19	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1ar-(1a.alpha.
28	11.302	0.72	Caryophyllene oxide
29	13.725	0.27	3-Benzylsulfonyl-2,6,6-trimethylbicyclo(3.1.1)heptanes
		100.00	

امــتلاك الزيــوت العطريــة لفعاليــة مضــادة للأكســدة عاليــة مقارنــة بمضــادات الأكســدة الصــناعية(23) مــن هــذا نســتنتج امكانيــة اســتعمال الزيــوت العطريــة كمضــافات غذائيــة بــدلاًمن مضــادات الأكســدة الصــناعية اذ أن هــذه الزيــوت لا تســبب أي مضــار علــى صــحة الأنسان.

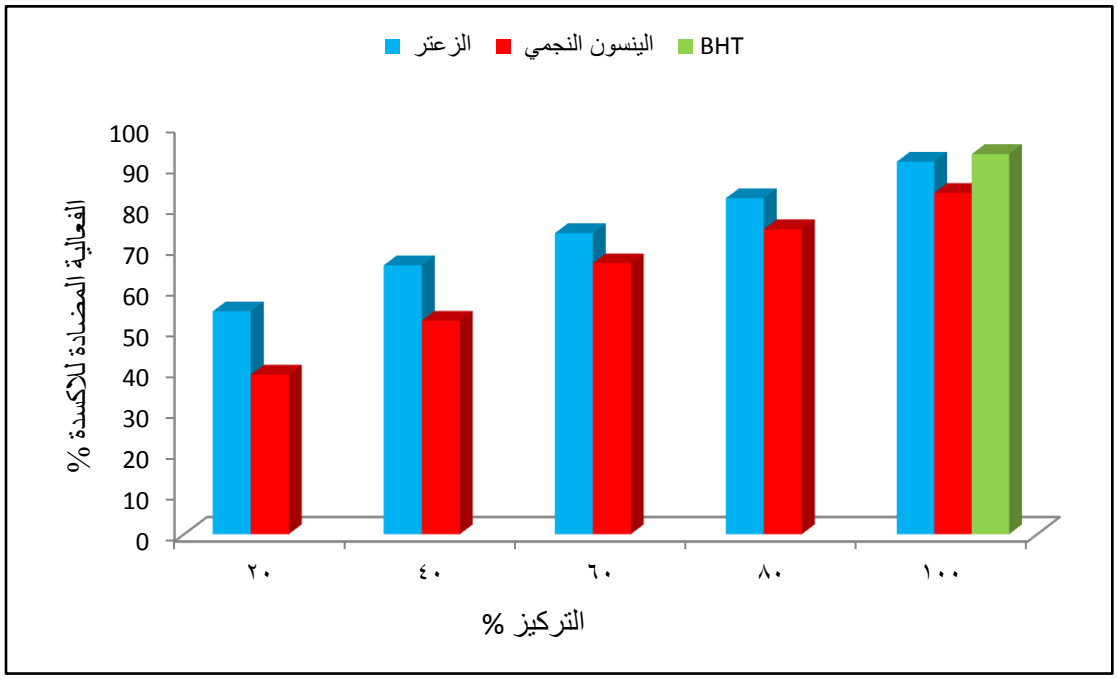
و يشـير الشـكل (4) الـى وجـود فروقـات طفيفـة فـــي القـــيم الابتدائيـــة للـــرقم البيروكســـيدي لجميـــــــع المعـــــــاملات البالغـــــــة (1.55_1.51)ملـــي مكـــافئ / كغـــم لحـــم، أمـــا بعـد مـرور15,10,5 يومـا مـن الخـزن بدرجـة 4ºم فـنلاحظ ان الزيـادة فـي فـي قيمـة البيروكسـيد قـد انخفضـت بزيـادة تركيـز الزيـوت العطريـة بالمقارنـة مـع عينـة السـيطرة التـي أظهـرت ارتفـاع واضـح فـي قـيم البيروكسـيد والتـي كانـــت بحـــدود 13.12,8.38,4.12 ملـــي مكـافئ. كغـم-1 لحـم علـى التـوالي ويعـود السـبب الـى ان اللحـوم تحتـوي علـى نسـبة عاليـة مـن الأحمـاض الدهنيـة والحديـد لـذلك فهـي حساسـة لعمليـة الأكسـدة (27). فـي حـين كانـت هنـاك زيـادة قليلـة فـي بـاقي المعـاملات المتمثلـة بـــالتراكيز1,0.5,0.1 %لكـلا الـزيتين مقارنـة بالعينةالقياسـية المحتويـة علـى مضـاد الأكسـدة الصـناعي BHTويعـود السـبب فـي ذلـك إلـى أحتـواء الزيـوت العطريـة علـى مركبـات مضـادة للأكسـدة فينوليـة وهـذه تسـتقبل الجـذور الحـرة المتكونـة كمـا انهـا تسـتطيع اخمـاد فعاليـة الجـذور الحـرة (13). ونلاحـظ ان قيمـة البيروكسـيد عنـد تركيـز1%مـن زيـت الزعتـر مقاربـة الـى قيمـة البيروكسـد للعينـة القياسـية بعـد مـدة خـزن 15 يومـا وهـذا دلالـة علـى الكفـاءة العاليـة لزيـت الزعتـر علـى اعاقـة الأكسـدة الحاصـلة للـدهون فـي اللحـم بسـبب أحتـواء زيـت الزعتـر علـى مركبات الفينولات.



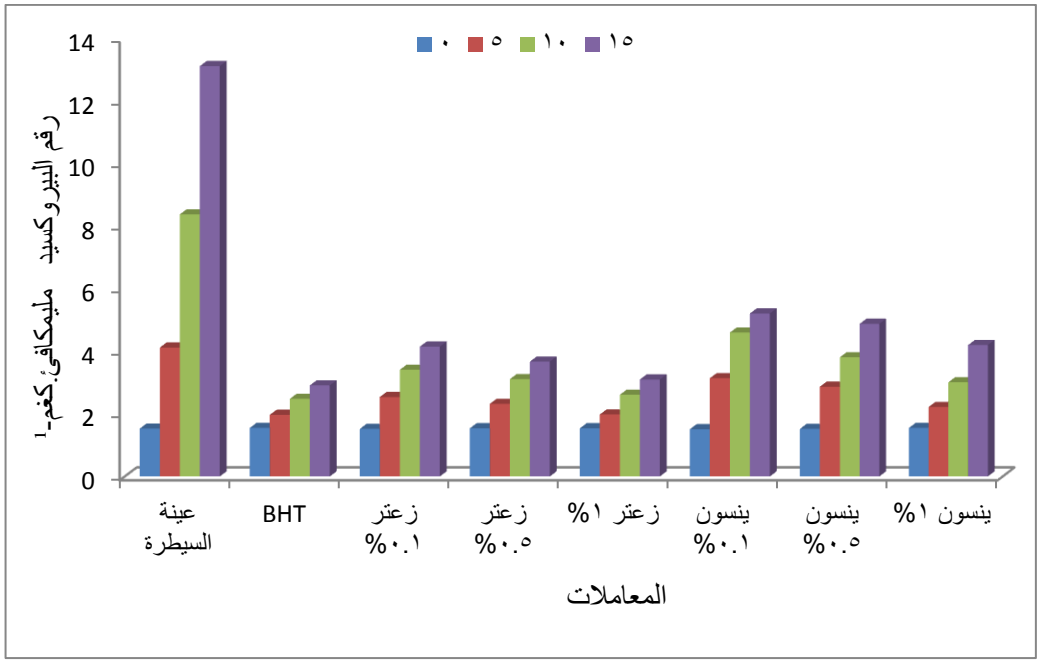
شكل(2): كرموتوكرامGC-MS للزيت المستخلص من الينسون النجمي قيد الدراسة

جدول (4): المركبات المفصولة بتقنيةGC-MS ونسبها في زيت الينسون النجمي قيد الدراسة

Peak	R.Time	Area%	Name
1	5.861	0.29	Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-
2	5.919	1.03	D-Limonene
3	6.260	0.19	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-
4	6.579	0.12	Bicyclo[4.1.0]hept-2-ene, 3,7,7-trimethyl-
5	6.724	0.81	Linalool
6	7.615	0.30	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-
7	7.794	0.12	Benzaldehyde, 4-(1-methylethyl)-
8	8.091	0.13	1-(3-Methyl-2-butenoxy)-4-(1-propenyl)benzene
9	8.347	1.20	Benzene, 1-methoxy-4-(1-propenyl)-
10	8.416	6.58	Anisaldehyde
11	8.747	86.88	Anethol
12	9.223	0.31	3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.,4-trimethyl-, acetate
13	9.572	0.73	2-Propanone, 1-(4-methoxyphenyl)-
14	9.831	0.16	Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6-dimethyl-6-(4-methyl-3-pentenyl)-
15	9.923	0.16	Caryophyllene
16	10.005	0.47	Bicyclo[3.1.1]heptane, 6-methyl-2-methylene-6-(4-methyl-3-pentenyl)-, [1R-(1.alpha.
17	10.005	0.14	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-
18	10.632	0.21	Cyclohexene, 1-methyl-4-(5-methyl-1-methylene-4-hexenyl)-, (S)-
19	11.048	0.17	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-, (E)-
		100%	



شكل (3): الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت العطرية قيد الدراسة بتراكيز مختلفة مقارنة مع BHT



شكل (4): تأثيرأضافة تراكيز مختلفة من الزيوت العطرية على قيم البيروكسيد في اقراص اللحم البقري خلال فترات مختلفة0-15 يوم

المصادر

1-أبــو زيــد ، الشــحات نصــر .1992. النباتــات العطريــة ومنتجاتهــا الزراعيــة والدوائيــة .الطبعــة الثانيــة . الــدار العربيــة للنشــر والتوزيــع ، مدينــة نصــر . القــاهرة .جمهوريــة مصــر العربيــة. 473 ص.

2-الحــديثي,ســلفانا طــارق شــعبان .2006. الصــفات النوعيــة للزعتــر المحلــي والمــزروع واســتعمالها مانعــا لنمــو البكتريــا ومضــاداً لاكســدة الزيــوت. رســالة ماجســتير ،كليــة الزراعــة .جامعة بغداد. جمهورية العراق.

3-الجنــابي, نضــال محمــد صــالح.2004. تــأثير المستخلصــات النباتيــة كمضــادات مايكروبيــة, وكمضــادات اكســدة وتطبيقهــا فــي الانظمــة الغذائيــة، اطروحــة دكتــوراه، كليــة الزراعــة, جامعة بغداد.جمهورية العراق.

4 -المالكي،رفــل عبــد الحســين رســن .2016.دراســة تــاثير طــرق الأســتخلاص علــى مكونــات الزيــوت العطريةلبعضبذورالعائلةالخيميةباســتخدامتقنية GC MS.رســالة ماجســتير ،كليــة الزراعــة .جامعة البصرة. جمهورية العراق.

5- حســين، فــوزي طــه قطــب .1981.النباتــات الطبيــة زراعتهــا ومكوناتهــا .دار المــريخ للنشــر الرياض .المملكة العربية السعودية .

6- رومــو ،احمــد .2005.الــدليل إلــى المعالجــة بــالعطور. (الزيــوت العطريــة – طــرق الاســتعمال – دليــل التوليــف). الطبعــة الأولــى . دار علاء الدين .دمشق.سوريا.

7-Agili, F. A..2014. Chemical composition, antioxidant and antitumor activity of *Thymus vulgaris L*. Essential Oil. Middle-East Journal of Scientific Research, 21 (10): 1670-1676.

8-Akarca, G.;A.Caglar and Tomar, O.. 2016. The effects of spicing on quality of mozzarella cheese, 66: 112–121.

9- A . O .C .S . .1971. Official and Tentative Methods 3rd. American Oil Chemists Society Chicago. USA.

10-Atti-Santos, A.C., M. R. Pansera; N. Paroul; L. AttiSerafini and Moyna, P.2004. Seasonal variation of essential oil yield and composition of *Thymus vulgaris L*. (Lamiaceae) from South Brazil. J. Essen Oil Res., 16: 294-295.

11-Baranauskiene, R.; P. R. Venskutonis; P. Viskelis and Dambrauskiene, E..2003. Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus*

M.G..2000. Traditional uses of plants in the eastern Riviera (Liguria, Italy). J. Ethnopharmacol, 125: 16–30.

17-Davis, P.H..1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. University Press, Edinburgh. England.

18-De, M.; D. A. Krishna; P. Senand and Banerjee, A.B. .2002. Antimicrobial Properties of star anise (*Illicium verm* Hook f). Phy. Res., 16: 94-95.

19-Golmakani,M.-T. and K.Rezaei.2008. Comparison of microwave-assisted hydro distillation with the traditional hydro distillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. Food Chemistry, 109 : 925–930.

20-Goodner, K.L.; K. Mahattanatawee ; A. Plotto; J.A. Sotomayorand Jordan, M.J.. 2006. Aroma profile of *Thymus hymalis* and Spanish *T. vulgaris* essential oil by GC-MS/GC-O. Indus Crops Prod., 24: 264-268.

vulgaris). Journal of Agricultural and food chemistry, 51: 7751-58.

12-Basch, E.; C. Ulbricht; P. Hammerness; A. Blevins and Sollars, D..2004. Thyme (*Thymus vulgaris L.*), Thymol. J. Herb. Pharmacother, 4: 49–67.

13-Bera, D.; D. Lahiri and Nag, A. .2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. Journal of Food Engineering 74 : 542–545.

14-Burt, S. .2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in foods e a review. International Journal of Food Microbiology, 94: 223-253.

15-Carlen, C.; M.Schaller; C. A.Carron; J. F. Vouillamoz and Baroffio, J. F. . 2010. The new *Thymus vulgaris L.* hybrid cultivar (Varico 3) compared to five established cultivars from Germany, France and Switzerland. Acta Hort., 860: 161-166.

16-Cornara, L.; A. La Rocca; S. Marsiliand and Mariotti,

and new -phenylpropanoidglucosides from the fruits of *Illicium verum*. Planta Med., 69: 861-864.

26-Miladi, H.; R. Ben Slama ; D. Mili; S. Zouari; A. Bakhrouf and Ammar, E.2013. Essential oil of *Thymus vulgaris L*. and *Rosmarinus officinalis L*.: Gas chromatography-mass spectrometry analysis, cytotoxicity and antioxidant properties and antibacterial activities against foodborne pathogens. Natural Science, 5(6) :729-739.

27-Mitsumoto, M.; O. M. Grady ; J.P. Kerry and Buckley, D.J. .2005. Addition of tea catechins and vitamin c on sensory evolution, color and lipid stability during chilled storage in cooked or raw beef and chichen patties .Meat Sci., 69: 773 – 779 .

28-Moon, J. K. and T. Shibamoto. 2009. Antioxidant assays to plant and food components. J. Agric. Food Chem., 57: 1655-1666.

21-Grigore,A.; I. Paraschiv; S. Colceru-Mihul; C. Bubueanu; E. Draghici and Ichim, M..2010. Chemical composition and antioxidant activity of *Thymus vulgaris* L. volatile oil obtained by two different methods. Romanian Biotechnological Letters, 15(4):5436-5443.

22-Huang,Y.; J. Zhao; L. Zhou; J. Wang; Y. Gong; X. Chen; Z. Guo ;Q. Wang and Jiang, W.2010. Antifungal Activity of the Essential Oil of *Illicium verum* Fruit and Its Main Component trans-Anethole. Molecules, 15: 7558-7569.

23-Larson, R.A. .1988.The antioxidants of higher plants. Phytochem., 27: 969-978.

24-Lee, S.E.; E. M. Ju and J. H. Kim.2002.Antioxidant activity of extracts from Euryale ferox seed. Exp. Mol. Med., 34: 100-106.

25-Lee, S.; G. Li; K. S. Lee; J. Jung; M. Xu; C. Seo; H. Chang; S. Kim; D. Song and Son, J..2003. Preventive agents against sepsis

29-Nanditha, B. and P. Prabhasankar .2009. Antioxidants in bakery products: a review. Cri. Rev. Food Sci. Nutr., 49: 1-27.

30-Osawa, T. and M. Namiki .1981. A novel type of antioxidant isolated from leaf wax of leaves. Eucalyptus Agric. Biol. Chem., 45: 735-739.

31-Pearson ,D. .1976. The Chemical Analysis of Foods. 7th ed. Edinburgh; New York . Churchill Livingstone .USA. PP:575.

32-Qin,W.; J. Lin and Qibiao, W.2007. Effect of three extraction methods on the volatile component of *Illicium verum* Hook. f. analyzed by GC-MS.Wuhan University. Journal of Natural Sciences,12(3): 529–534.

33-Singh, G.; S. Maurya; M.P.de Lampasonaand and Catalan, C.2006. Chemical constituents, antimicrobial investigations and ant oxidative potential of volatile oil and acetone extract of star anise fruits. J. Sci. Food Agri., 86: 111-121.

34-Stahl-Biskup, E. and F. Saez. 2002. Thyme. Taylor and Francis, London. England.

35-Stoffel, W. ; F. Chu and Abrens, E. H. .1959. Analysis of long chain fatty acids by gas liquid chromatography micro- method for preparation of methyl esters. Anal. Chem., 31:307-308.

36- Tuan, D.Q. and S.G.Ilangantileke.1997. Liquid CO2 extraction of essential oil from star anise fruits (*Illicium verum* H.). Journal of Food Engineering, 311: 47–57.

37-Wang, Z.; L. Wang; T. Li; X. Zhou; L. Ding; Y. Yu; A. Yu and Zhang, H. .2006. Rapid analysis of the essential oils from dried *Illicium verum* Hook f. and *Zingiber officinale* Rosc. By improved solvent-free microwave extraction with three types of microwave-absorption medium. Ana. Bioanal Chem., 386: 1863-1868.

38-Wong, Y.C.;P. P.Lee and Wannurdiyana, W. A.2014.

Extraction and Antioxidative Activity of Essential Oil From Star Anise (*Illicium verum*). Oriental Journal of Chemistry, 30 (3): 1159-1171.

39- Yadav, S. D; O. K. Mahadwad; S. Kshirsagar and Gite,V.A..2015. Extraction and Characterization Study of Aniseed Oil. 2nd International Conference on Multidisciplinary Research & Practice,3(1):48-51.

40-Zhang1,W; Y. Zhang; X. Yuan and Sun, E.2015. Determination of Volatile Compounds of *Illicium verum* Hook. f. Using Simultaneous Distillation-Extraction and Solid Phase Micro extraction Coupled with Gas Chromatography-Mass Spectrometry. Tropical Journal of Pharmaceutical Research , 14(10): 1879-1884.

Extraction of essential oils from Thyme (*Thymus vulgaris)* and Star anise (*Illicum verum*)and measuring their antioxidant activity and Identification of active compounds using GC-MS

Zena Kadhim Al_Younis

Department of Food Science-College of Agriculture- University of Basrah-

Republic of Iraq

Abstract

In this study, essential oils were extracted from Thyme and Star aniseusing Clevenger method. Oil yield extracted were 2.4% and 4.5% respectively. The physical propertiesof extracted oils have been studied. Refractive index values for essential oils were 1.4952 and 1.5584 respectively. Colors of extracted essential oils were yellow gold and pale yellow respectively, and the taste of Thymeoil was hot burning and the taste of Star aniseoil was sweet,as essential oils were dissolved into alcohol and did not dissolve in water.

The Active chemical compounds of the essential oils were characterized using GC-MS. Thyme oil contains 29 compounds, and the most important compound was Thymol 54.87%. Star aniseoil contains 19 compounds, and the most important compound was Anethol 88.19%.

Antioxidant activity has been measured for different concentrations of the essential oils(Thyme& Star anise). The results showed that antioxidant activity of linoleic acid of essential oils was increased with increasing concentration of essential oil, the where concentration of 100% gave higher value of antioxidant activity of oils extracted 91.17% and 83.54% respectively.

The essential oils were added to beef meatballs at (0.1, 0.5, 1)% which were stored at 4°C for 15 days. The peroxide values decreased as concentration of the essential oil was increased in meatballs.

Keywords: Thyme *Thymus vulgaris*, Star anise *Illicium verum*, Antioxidant

Receiving Date :10-5-2017
Acceptance Date :3-6-2017