Study of the effect of wild thyme leaf extract (oregano) as a natural antioxidant in Syrian Extra Virgin Olive Oil during storage

Dr. Sawsan Yousef saad*

(Received 28 / 6 / 2021. Accepted 15 / 12 /2021)

□ ABSTRACT □

This study has been done in order to study the influence of adding wild thyme leaf extract as a natural antioxidant in Extra Virgin Olive Oil at different concentration (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 1)%, and its role to increase the shilf life and improve the properties of Extra Virgin Olive Oil, In presence of control sample (Extra Virgin Olive Oil sample without Thymus Extract).

Moreover the study has determined the changes to the Extra Virgin Olive Oil samples that had been stored in transparent glass bottles exposed to the light and in black bottles, for different periods of time during a whole year.

It has been found significant effect of wild thyme leaf extract as antioxidant in Extra Virgin Olive Oil samples stored both in trausparent and black bottles compared with controlled samples, this because of increase in Peroxide Value and Determination of Free Acidity, and decrease in Iodine Value. in terms of changes in Extra Virgin Olive Oil properties, the samples stored in black battles showed positive effects compared to those stored in the transparent ones.

Keywords: Extra Virgin Olive Oil, Natural products, wild thyme leaf extract, antioxidant, shilf life

* **Associate Professor - Faculty department of chemistry, Tishreen University, Lattakia, Syria . Sawsansaad@gmail.com**

دراسة تأثير مستخلص أوراق الزعتر البري (الأوريجانو) كمضاد أكسدة طبيعي في زيت الزيتون البكر الممتاز السوري خلال التخزين

د. سوسن يوسف سعد *

(تاريخ الإيداع 28 / 6 / 2021. قُبِل للنشر في 15 / 12 /2021)

□ ملخّص □

تمت دراسة تأثير إضافة مستخلص أوراق الزعتر البري كمضاد أكسدة طبيعي في زيت الزيتون البكر الممتاز (EVOO) بتراكيز مختلفة (0.05%, 0.1% ,0.2% ,0.4%, 0.6%, 1%) ودوره في إطالة العمر التخزيني للزيت وتحسين خصائصه، مع وجود عينة زيت شاهد (غير مضاف له مستخلص أوراق الزعتر البري).

دُرست بعض التغيرات التي تطرأ على زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن في عبوات زجاجية شفافة معرضة للضوء وأخرى عاتمة مدة عام كامل كل شهرين مرة.

لوحظ التأثير الواضح للمستخلص كمضاد أكسدة بالتراكيز المضافة جميعها في زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن في العبوات الزجاجية الشفافة والعاتمة إذ حدث ارتفاع واضح في قيمة البيروكسيد ونسبة الحموضة الحرة وانخفاض في القيمة اليودية في عينتي الشاهد المخزنتين في عبوة شفافة وأخرى عاتمة مقارنة مع عينات الزيت المضاف إليه مستخلص أوراق الزعتر البري، وكان للعبوات العاتمة تأثير إيجابي واضح من ناحية التغير في خصائص الزيت بالمقارنة مع العبوات الشفافة المعرضة للضوء.

الكلمات المفتاحية: زيت زيتون بكر ممتاز، منتجات طبيعية، الزعتر البري، مستخلص، مضاد أكسدة طبيعي، مدة الصلاحية.

***أستاذ مساعد– كلية العلوم– جامعة تشرين–اللاذقية – سورية. Sawsansaad@gmail.com**

مقدمة

تتعرض الزيوت والدهون والمواد الغذائية الغنية بها للأكسدة التلقائية والتي تؤدي إلى تدهور نوعيتها وانخفاض قيمتها الغذائية؛ لاسيما عند تخزينها في درجة حرارة مرتفعة، لذلك استعملت مضادات الأكسدة الاصطناعية التي تبين أن لها تأثيرات سمية وسرطانية في صحة الإنسان. لذا استخدمت مضادات أكسدة من مصادر طبيعية كبدائل لمنع تدهور الزيوت والدهون من ناحية ومأمونة الجانب من ناحية أخرى. واستخدمت النباتات العطرية التي تشكل مصدرًا غنيًا بمضادات الأكسدة الطبيعية المتوفرة في زيوتها الأساسية أو مستخلصاتها المتنوعة.

أضيف مستخلص الثوم بثلاثة تراكيز مختلفة (1000, 500, 250) جزء في المليون إلى زيت دوار الشّمس قبل عملية التسخين وأُستخدمت مضادات الأكسدة الاصطناعية BHA و BHT للمقارنة، وبقيت عينة الشاهد بدون إضافات، وحدّدت قيم كل من الأحماض الدهنية الحرة، البيروكسيد واليودية.

بينت النتائج أنّ لمستخلص الثوم قدرة على منح زيت دوّار الشّمس ثباتية أثناء التخزين بشكل يفوق قدرة مضادات الأكسدة الاصطناعية، تجاه العوامل المؤكسدة بشكل عام، ويمنح هذا المستخلص الاستقرار أو الثباتية العالية عند المعالجات الحرارية على عكس مضادات الأكسدة الاصطناعية. (SHAHID, I.; BHANGER M.I.; 2007)

استخدمت مذيبات عضوية مختلفة هي الإيثانول، الميثانول، الأسيتون، الهكسان، الإيثر البترولي وثنائي إيثيل الإيثر لتحضير مستخلصات قشر البطاطا لتقييمه كمضاد أكسدة طبيعي أضيف لزيت فول الصويا المكرر. اعتمدت اختبارات نسبة الأحماض الدهنية الحرة (FFA) وقيمة البيروكسيد (POV) والقيمة اليودية (IV) كمعايير لتقييم النشاط المضاد للأكسدة لمستخلص قشر البطاطا. تم الحصول على أقصى كمية من المستخلص باستخدام الإيثر البترولي، ثنائي إيثيل الأثير والميثانول (21% ,15.25% ,14.75%) على الترتيب. أوضحت النتائج بعد 60 يومًا من التخزين عند 45 درجة مئوية، أن مستخلص قشر البطاطا بتركيزات مختلفة، أظهر نشاطًا قويًا مضادًا للأكسدة والذي كان مساويًا تقريبًا لمضادات الأكسدة الاصطناعية (BHA & BHT). لذلك، يمكن استخدام مستخلص قشر البطاطا في الزيوت والدهون والمنتجات الغذائية الأخرى بأمان كمضاد أكسدة طبيعي للحد من أكسدة الدهون.

لوحظ أيضاً عدم تأثير مستخلص قشر البطاطا في الخواص الحسية للزيت (اللون، الطعم، النكهة)، كانت هذه النتائج منسجمة مع النتائج التي أُجريت عام 1989 على مستخلصات القرنفل؛ حيث وجد بأن لهذه المستخلصات قدرة على تثبيط عملية الأكسدة عند إضافتها بنسب 1200 و2400 جزء في المليون. (ZIA-U.R.; *et al*., 2004)

تمّ تحضير مستخلص قشر الحمضيات بالإيثانول، الميثانول، الأسيتون، الهكسان، ثنائي إيثيل الإيثر وثنائي كلورو ميثان وتقييمها كمصدر طبيعي لمضادات الأكسدة خلال 6 أشهر من التخزين المتواصل لزيت الذرة المكرر على درجات حرارة 25 و45 درجة مئوية، تم الحصول على أقصى كمية من المستخلص باستخدام الميثانول. حدد محتوى الأحماض الدهنية الحرّة، قيمة البيروكسيد، والقيمة اليودية في العينات بطريقة فيجس (Wijis) وتبين أنّ فعاليّة المستخلص قوية جداً مساوية تقريباً لمضادات الأكسدة الاصطناعية، ولذلك أوصي باستخدامه كمضاد أكسدة طبيعي للحدّ من التزنّخ الأكسيدي في الزيوت والدّهون. (ZIA-UR-REHMAN, 2006)

تمّ استخلاص قشر البطاطا باستخدام خمسة مذيبات الماء، الإيثانول، الميثانول، الهكسان والأسيتون بمساعدة الأمواج فوق الصوتية وكانت كمية المستخلص المائي أكبر، تم تحديد محتوى الفينولات الكلي في المستخلصات بطريقة طيفية وفقًا لـ Folin-Ciocalteu وكانت كميتها أكبر في المستخلص الميثانولي.

تم تحديد النشاط المضاد للأكسدة للمستخلص الميثانولي باستخدام الفرن (63 درجة مئوية) والرانسيمات (90، 120 و150) درجة مئوية على 5 غرام زيت فول الصويا المكرر بإضافة (800، 1600) جزء في المليون بعد 16 يوماً من التخزين، ومقارنة تأثيره مع تأثير مضادات الأكسدة الاصطناعية BHT , BHA و TBHQ واعتمدت قيم البيروكسيد و 2–ثيوباربيتوريك أسيد للتقييم. كشفت طريقة Rancimat أن فاعلية TBHQ كانت أفضل كمضاد أكسدة ولكن مستخلص قشر البطاطا كان جيدًا يماثل BHA و BHT بالفعالية. (Azadeh M., *et al*., 2012)

تمّ استخلاص المركبات ذات الخصائص المضادة للأكسدة من كعكة فول الصويا باستخدام الإيثانول وأضيف بتراكيز 50، 100، 150 و200 جزء في المليون إلى زيت فول الصويا. أوضحت النتائج انخفاضاً في قيم كل من البيروكسيد والبارا أنيزيدين لزيت فول الصويا أثناء التخزين عند 65 درجة مئوية. (Nafiseh Z., *et al*., 2017)

قُيمت فعالية مستخلص قشر كل من (البرتقال الرمان والزنجبيل) باستعمال الإيثانول من خلال إضافتها كل على حدى إلى زيت النخيل المكرر بتركيزين (100 و200) جزء في المليون، وتخزينها مدة 5 أيام في الفرن في درجة حرارة 63 م، ومقارنتها بمضاد الأكسدة الاصطناعي بروبيل غالات. قدرت الفعالية المضادة للأكسدة للمستخلصات الطبيعية ومضاد الأكسدة الاصطناعي ومعاملة الشاهد الخالية من مضاد الأكسدة ضمن الظروف الحرارية من خلال تقدير قيم كل من الحموضة (AV)، البيروكسيد (PV) واليودي (IV) ومعامل الإنكسار(RI). كما قدرت الفعالية المضادة للأكسدة من خلال دراسة ثباتية الزيت باستعمال طريقة الرانسيمات. أظهرت المعاملات جميعها فعالية مضادة للأكسدة مع تفوق مستخلص قشور الرمان تفوقاً معنوياً. (Talal, K.; Gamil , M, 2011)

تم استخدام مستخلصات من الهيل الأخضر والأسود لتقييم قدرتها كمضادات للأكسدة في زيت دوار الشمس بالإضافة إلى مضادات الأكسدة الاصطناعية BHA / BHT للمقارنة مع التخزين مدة 45 يومًا. عن طريق قياس الأحماض الدهنية الحرة (FFA) وقيمة البيروكسيد (PV) وقيمة اليود (IV). أظهرت النتائج أن مستخلصات الهيل الأخضر أكثر فعالية مقارنة بمستخلصات الهيل الأسود. ولكن بالمقارنة مع BHA وBH (200 جزء في المليون)، وجد أنها فعالة بتراكيز أعلى. (Alia, N.; *et al*., 2017)

الزعتر البري، زعتر زاحف، الاسم العلمي له *Thymus* ينتمي إلى الفصيلة الشفوية Lamiaceae، من رتبة الشفويات Lamiales، موطنه أوروبا وشمال إفريقيا. نبات معمر دائم الخضرة، زاحف منخفض النمو يشكل بساطًا أخضراً داكنًا من الأوراق، أزهاره بنفسجية صغيرة جاذبة للفراشات والنحل. يستخدم في الطب التقليدي، وتُستخدم أجزاؤه الهوائية بشكل أساسي لعلاج الأمراض والمشاكل المتعلقة بالجهاز التنفسي والجهاز الهضمي، يمثل موردًا طبيعيًا مهمًا لصناعة الأدوية. ومصدرًا لمضادات الأكسدة الطبيعية أو المكملات الغذائية أو مكونات الأطعمة الوظيفية في صناعة الأغذية. (JARIĆ, S.; *et al*., 2015)

تم اكتشاف اثنين وثلاثين مركباً في نبات الزعتر البري، حدّد منها اثني عشر مركبًا فينوليًا مصنفة كمشتقات أحماض هيدروكسي بنزويك، هيدروكسي سينامیك وفلافانون ومشتقات حامض الكافيين والفلافونات من بينها الكاتشين والأنثوسيانين حمض غاليك، حمض بروتوكاتويك، حمض كلوروجينيك، حمض سيرينجيك، أبيجينين، إريوديكتيول، نارينجينين وحمض **p**– كوماريك مع أعلى محتوى من حمض روزمارينيك، لوتيولين، لوتيولين – 7- O – غلوكوبيرانوزيد، الثيمول وكارفاكرول، إضافة إلى بعض الستيرولات التي بعضها ذواب في الماء وبعضها ذواب في الكحولات، مع التانينات الذوابة في الماء.

(*Seung*, j. l.; *et al*., 2005), (Tea, K.; *et al*., 2006), (Michał A., *et al*., 2017)

هدف البحث:

يتمتع زيت الزيتون بقيمة غذائية وعلاجية كبيرة للكثير من الأمراض، لكنّه يمتلك فترة تخزين محدودة ويتعرض لتغيرات غير مرغوبة. تسبب عمليات الأكسدة فيه فساد الزيت، لذلكً استخدام مضادات الأكسدة الطبيعية من مصادرها النباتية مهم جداً في إطالة العمر التخزيني لزيت الزيتون. لذا هدفت هذه الدّراسة إلى:

– دراسة تأثير مستخلص أوراق الزعتر البري كمضاد أكسدة طبيعي بتراكيز مختلفة في زيت الزيتون البكر الممتاز.

– المقارنة بين فعالية هذا المستخلص عند التراكيز المختلفة منه .

– دراسة فعالية هذا المستخلص على ثباتية زيت الزيتون البكر الممتاز (زمن التخزين والضوء).

– تحديد التركيز الأمثل من المستخلص وتحديد الفترة الزمنية الكافية لفعاليته.

1 –المواد المستخدمة:

• زيت زيتون بكر ممتاز (EVOO) سوري المنشأ إنتاج محافظة اللاذقية.

• أوراق الزعتر البري (أوريجانو) المتوفر بكثرة في ريف محافظة اللاذقية في سورية.

• المحلات المستخدمة: إيتانول مطلق 99.9%، كلوروفورم 99.5%، ثنائي إيتيل الإيتر 99.5% جميعها صنع شركة Scharlau ورباعي كلوريد الكربون 99.8% صنع شركة .SHAM LAB

• حمض الخل الثلجي.

• هيدروكسيد البوتاسيوم أو هيدروكسيد الصوديوم.

• الأملاح المستخدمة: ثيوسولفات الصوديوم، ثنائي كرومات البوتاسيوم و يوديد البوتاسيوم.

• الكواشف المستخدمة: الفينول فتالئين ومطبوخ النشاء و اليود الحر.

2– طرائق العمل:

2–1– جمع العينات وحفظها:

جمعت أوراق الزعتر البري خلال شهر تموز من العام 2019 في ريف محافظة اللاذقية. نظفت العينات السابقة جيداً من الغبار والشوائب العالقة، جففت في مكان ظليل جيد التهوية عند درجة حرارة الغرفة (20–25) درجة مئوية. طحنت بعد ذلك العينات بواسطة مطحنة كهربائية حتى درجة النعومة المطلوبة وحفظت في أوعية زجاجية محكمة الإغلاق بعيداً عن الضوء والحرارة إلى حين إجراء الدراسات الكيميائية اللاحقة.

2–2–تحضير مستخلص أوراق الزعتر البري Preparation of wild thyme leaf extract:

• تم تحضير ثلاثة أنواع من المستخلصات النباتية بطريقة النقع على البارد وهي: المستخلص المائي بنسبة (5:1)[(V:W)(غرام:مل)](مسحوق نباتي:ماء مقطر)، المستخلص الإيتانولي بنسبة [2:1 (V:W)(غرام:مل)] (مسحوق نباتي:كحول ايتيلي99%) ومستخلص بالكلوروفورم (2:1)[(V:W)(غرام:مل)](مسحوق نباتي:كلوروفورم). للحصول على معظم مكونات أوراق الزعتر البري لأن بعضها ذواب في الكلوروفورم والبعض الآخر في الإيثانول والقسم الأكبر ذواب في الماء. تركت مدة أربع وعشرين ساعة في درجة حرارة الغرفة. تم الترشيح والتبخير تحت الفراغ والتجفيف عند الدرجة 40 C° . أخذ من المستخلص الناتج عن مزج المستخلصات الثلاثة أوزاناً حسب التراكيز المحددة وخلطت مع بعضها جيداً.

• إضافة مستخلص الزعتر البري بالتراكيز التالية: (0.05%، 0.1%، 0.2%، 0.4% ، 0.6% و 1%) (غرام مستخلص/100 مل زيت زيتون بكر) لعينات زيت الزيتون البكر المعبأة في عبوات زجاجية شفافة معرضة للضوء وأخرى عاتمة، مع ترك عينة زيت شاهدة (بدون إضافة مستخلص مضاد أكسدة) في زجاجة شفافة معرضة للضوء وأخرى في زجاجة عاتمة.

• تخزين العينات المدروسة والشاهد ضمن ظروف الوسط المحيط في الغرفة من درجة حرارة وإضاءة لمدة عام (وضعت العبوات العاتمة والشفافة على طاولة في المختبر).

• تحديد بعض الخصائص لعينات الزيت في اللحظة صفر وبعد كل شهرين وهي: قيمة البيروكسيد ، القيمة اليودية ونسبة الحموضة الحرة، والتي تعتبر من أهم الاختبارات المعتمدة لتحديد نوعية وجودة الزيت.

2- 3- تحديد قيمة البيروكسيد Peroxide Value معبراً عنه بـ (ميلي مكافئ أكسجين فعال/ كغ زيت):

تعرّف قيمة البيروكسيد بأنّها مقياس للبيروكسيدات المحتواة في الزيت، ويُعبّر عنها بعدد الميلي مكافئات الكلية في 1 كيلوغرام من الزيت. تتفكّك البيروكسيدات وتعطي مركبات مثل الألدهيدات والكيتونات المسبّبة للتزنخ.

حُددت قيمة البيروكسيد بطريقة معايرة اليود المتحرر من تفاعل زيت الزيتون المذاب في مزيج الكلوروفورم وحمض الخل الثلجي (3:2) في الظلام مع يوديد البوتاسيوم المشبع باستخدام محلول ثيوسولفات الصوديوم 0.01N ومشعر النشاء.

الكواشف Reagents:

يجب أن تكون كل الكواشف والماء خالية من الأكسجين المنحلّ، ويمكن إنجاز ذلك بإمرار تيار نقي وجاف من ثنائي أكسيد الكربون أو النتروجين من خلال كل كاشف على حدى.

- محلول الكلوروفورم
- حمض الخل الثلجي: يمزج ثلاثة حجوم من حمض الخل الثلجي مع حجمين من الكلوروفورم.
- يوديد البوتاسيوم: يُحضّر محلول مشبع منه في ماء مغلي حديثاً

الطريقة Method:

يوزن 2 غرام من الزيت في أرلنماير سعة 250 ميلي ليتر، ثمّ يُضاف إليها 25 ميلي ليتر من مزيج الكلوروفورم وحمض الخل الثلجي، ويُحرّك الأرلنماير حتى تذوب العينة في المحلول.

يُضاف 1 ميلي ليتر من محلول يوديد البوتاسيوم المشبع، ثمّ يُحرّك المزيج لمدّة دقيقة واحدة يوضع بعدها في الظلام مدّة خمس دقائق، ثمّ يُضاف 50 ميلي ليتر من الماء المقطّر ويعاير باستخدام محلول ثيو كبريتات الصوديوم 0.01N مع التحريك القوي والمستمر إلى قرب اختفاء اللون الأصفر حيث يُضاف 0.5 ميلي ليتر من محلول مشعر النشاء، وتتابع المعايرة بإضافة محلول ثيوكبريتات الصوديوم نقطة نقطة إلى أن يختفي اللون الأزرق تماماً. [12]

يُعاير الشاهد بنفس الطريقة وينبغي ألا تتجاوز معايرة الشاهد 0.1 ميلي ليتر من محلول ثيوكبريتات الصوديوم.

تُحسب قيمة البيروكسيد مقدرة بواحدة ميلي مكافئ / كيلوغرام زيت من العلاقة التالية:

حيث:

$$\text{قيمة البيروكسيد} = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 1000}{W}$$

V_1 : حجم محلول ثيوكبريتات الصوديوم المستهلك في معايرة التجربة الشاهدة بالميلي ليتر.

V_2: حجم محلول ثيوكبريتات الصوديوم المستهلك في معايرة التجربة الأساسية بالميلي ليتر.

N: نظامية محلول ثيوكبريتات الصوديوم.

W: وزن الزيت بالغرام.

2-4- تحديد القيمة اليودية: Iodine Value (طريقة Wijs)

تعتبر القيمة اليودية مقياساً لعدم الإشباع، ويُعرّف بأنه عدد غرامات اليود التي تمتصها مئة غرام من الزيت.

تم تحديد القيمة اليودية بطريقة معايرة اليود المتحرر من تفاعل الزيت المذاب في رباعي كلوريد الكربون في الظلام مع يوديد البوتاسيوم 10% باستخدام محلول ثيوسلفات الصوديوم 0.1N .

الكواشف Reagents:

* رباعي كلوريد الكربون خالٍ من المواد المؤكسدة.
* حمض الخل الثلجي خالٍ من الإيثانول والمواد المؤكسدة.
* محلول يوديد البوتاسيوم 10% خال من اليود واليودات.
* محلول النشاء 1% يُذاب في الماء الدافئ ويسخن عند درجة الغليان لمدة ثلاث دقائق ثم يترك ليبرد إلى درجة حرارة الغرفة.
* محلول ثيوسلفات الصوديوم 0.1 نظامي.
* محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم 0.1 نظامي.

تصحيح نظامية محلول ثيوسلفات الصوديوم

يؤخذ 25 ميلي ليتراً من محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم العياري في أرلنماير، ثم يُضاف 5 ميلي ليتراً من حمض كلور الماء المركز و10 ميلي ليتراً من محلول يوديد البوتاسيوم 10%، ويحرك حركة دائرية حتى يصبح المحلول متجانساً تماماً، ثم يترك لمدة خمس دقائق.

يضاف 100 ميلي ليتر من الماء المقطر، ويعاير المزيج باستخدام محلول ثيوكبريتات الصوديوم مع التحريك الجيد والمستمر للمزيج إلى قرب اختفاء اللون الأصفر، ويُضاف عندها 1 ميلي من مشعر النشاء، ثم تتابع المعايرة حتى اختفاء اللون الأزرق تماماً.

$$N_1 = \frac{V_2 \times N_2}{V_1}$$

حيث:

N_1: نظامية محلول ثيوكبريتات الصوديوم

N_2: نظامية محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم

V_1: حجم محلول ثيوكبريتات الصوديوم المستهلك في المعايرة بالميلي ليتر

V_2: حجم محلول ثنائي كرومات البوتاسيوم بالميلي ليتر

تحضير كاشف فيجس Wijis

يوزن 9 غرامات من ثلاثي كلوريد اليود في زجاجة بنية سعة 1500 ميلي ليتراً، ثم يُذاب في مزيج مؤلف من 700 ميلي ليتراً حمض خل ثلجي و300 ميلي ليتر من رباعي كلوريد الكربون.

يؤخذ 5 ميلي ليتر من المحلول السابق ويُضاف إليه 5 ميلي ليتر من محلول يوديد البوتاسيوم و30 ميلي ليتر من الماء المقطر، ثم يعاير اليود المتحرر باستخدام محلول ثيوكبريتات الصوديوم 0.1 نظامي وبوجود مشعر النشاء.
يضاف 10 غرامات من اليود النقي جداً إلى المزيج السابق ويذاب بالتحريك الجيد، ثم يعاير اليود الحر فوراً.
يجب أن تستهلك هذه المعايرة زمناً يساوي مرة ونصف من زمن التحديد الأول، فإن لم يتحقّق هذا الزمن يضاف كمية قليلة من اليود إلى المحتويات السابقة حتى يصبح زمن المعايرة مساوياً مرة ونصف من زمن التحديد الأول. (من المهم جداً ألا يبقى أية آثار من ثلاثي كلوريد اليود لأنها تسبب تفاعلات ثانوية)، ويترك المحلول ليرقد، ثم يصب السائل الصافي في زجاجة بنية اللون. [13]

الطريقة Method:

يضاف 15 ميلي غرام من رباعي كلوريد الكربون إلى أرلنماير سعة 300 ميلي ليتر تحتوي على 0.2 غرام من زيت الزيتون البكر الممتاز موزونة بدقة مع التحريك حتى تمام الانحلال، ثمّ يُضاف 25 ميلي ليتراً من محلول كاشف فيجس (Wijis)، وبعد التحريك اللطيف يوضع الأرلنماير في الظلام لمدّة ساعتين لإتمام التفاعل ثمّ يُضاف 20 ميلي ليتر من محلول مائي من يوديد البوتاسيوم ذي التركيز 10% و150 ميلي ليتراً من الماء المقطر.
يعاير بعد ذلك اليود المتحرر باستخدام ثيو كبريتات الصوديوم تركيز 0.1 إلى قرب اختفاء اللون الأصفر، ثم يضاف 0.5 ميلي ليتر من مشعر النشاء وتتابع المعايرة حتى اختفاء اللون الأزرق تماماً.
تجربة شاهد وتحسب القيمة اليودية من العلاقة التالية:

$$\text{القيمة اليودية} = \frac{(a-b)\times N\times 12.69}{W}$$

حيث:

W: وزن الزيت بالغرام

A: حجم الكاشف المستهلك لمعايرة التجربة الشاهدة بالميلي ليتر

B: حجم الكاشف المستهلك لمعايرة التجربة بالميلي ليتر

N: نظامية محلول ثيوكبريتات الصوديوم

2-5- تحديد نسبة الحموضة الحرة (معبراً عنها بالنسبة المئوية لحمض الأوليك):

Determination of Free Acidity percent

تم تحديد نسبة الحموضة الحرة بطريقة معايرة محلول الزيت المذاب في مزيج الإيثانول وثنائي إيثيل إيثير (1:1) بمحلول هيدروكسيد البوتاسيوم 0.1 عياري.
تمّ أخذ 10 غرام من الزيت في دورق معياري سعة 250 ميلي ليتر، أضيف إليها 50 ميلي ليتر من مزيج الإيثانول وثنائي إيثيل الإيثر. يعاير المزيج باستخدام ماءات البوتاسيوم الكحولية وبوجود مشعر الفينول فتالئين الكحولي 1% حتى ثبات اللون الوردي لمدّة ثلاثين ثانية. [14]
تُحسب نسبة الحموضة الحرة من العلاقة التالية:

$$\text{\% الحموضة} = \frac{N\times V\times 0.282}{W}\times 100$$

حيث:

V: حجم ماءات البوتاسيوم الكحولية المستهلكة في المعايرة بالميلي ليتر.

N: نظامية ماءات البوتاسيوم الكحولية.

W: وزن الزيت بالغرام.

النتائج والمناقشة

1- مستخلص الزعتر البري Thymus extract:

تم اختبار فعالية كل مستخلص لوحده، فأظهر المستخلص المائي فعالية أعلى من المستخلص الإيثانولي ومستخلص الكلوروفورم. بما أن الهدف من البحث إظهار فعالية مكونات الزعتر البري كلها كمضاد أكسدة لذا مزجت المستخلصات الثلاثة مع بعضها البعض وحصلنا على مستخلص يحتوي على جميع المكونات الموجودة في أوراق الزعتر البري. أخذ من المستخلص الكلي التراكيز المحددة في البحث.

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن في عبوات شفافة مدة ستة أشهر باستخدام المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (1): قيم الحجوم المستهلكة في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن في عبوات شفافة مدة ستة أشهر باستخدام المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

	بمستخلص الكلوروفورم				بمستخلص الإيثانول				بمستخلص الماء			
العينة	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
حجم KOH المستهلك	2.412	2.482	2.482	2.588	2.412	2.446	2.482	2.553	2.412	2.42	2.446	2.446
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.70	0.73	0.75	0.68	0.69	0.70	0.72	0.68	0.68	0.69	0.69
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.126	1.13	1.136	1.116	1.164	1.128	1.132	1.116	1.116	1.118	1.118
قيمة البيروكسيد	5.58	5.63	5.65	5.68	5.58	5.62	5.64	5.66	5.58	5.58	5.59	5.59
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.201	14.184	14.225	14.235	14.201	14.184	14.225	14.234	14.234	14.231	14.235
القيمة اليودية	90.32	90.11	90.00	90.26	90.32	90.11	90.00	90.26	90.32	90.32	90.30	90.31

يبين الجدول التالي تأثير فعالية المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم) في زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن في عبوات شفافة مدة ستة أشهر.

جدول (2): قيمة البيروكسيد (ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ زيت)، القيمة اليودية ونسبة الحموضة الحرة % لعينات زيت الزيتون البكر الممتاز للمستخلصات الثلاثة منفردة في عبوات شفافة مع الزمن

الزمن (شهر)	زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج			زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج								
				مستخلص الكلوروفورم (0.05%)			مستخلص الإيثانول (0.05%)			مستخلص الماء(0.05%)		
	قيمة البيروكسيد	القيمة اليودية	نسبة الحموضة الحرة	قيمة البيروكسيد	القيمة اليودية	نسبة الحموضة الحرة	قيمة البيروكسيد	القيمة اليودية	نسبة الحموضة الحرة	قيمة البيروكسيد	القيمة اليودية	نسبة الحموضة الحرة
2021/1	5.58	90.32	0.68	5.58	90.32	0.68	5.58	90.32	0.68	5.58	90.32	0.68
2021/3	6.42	87.81	0.70	5.63	90.11	0.70	5.62	90.17	0.69	5.58	90.32	0.68
2021/5	6.64	82.99	0.73	5.65	90.00	0.70	5.64	90.08	0.70	5.59	90.30	0.69
2021/7	6.83	82.14	0.75	5.68	90.26	0.73	5.66	90.29	0.72	5.59	90.31	0.69

1- يلاحظ في الجدول تزايداً في قيم كل من قيمة البيروكسيد ونسبة الحموضة الحرة وتناقصاً في القيمة اليودية في جميع عينات الزيت غير المعالج والزيت المعالج المضاف إليه مستخلصات أوراق الزعتر البري.

2- كانت قيمة البيروكسيد في جميع عينات الزيت المضاف له المستخلص بتركيز 0.05% ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ **زيت** أقل بالمقارنة مع قيمة البيروكسيد لعينة الشاهد ولكن لوحظ أن قيمة البيروكسيد لعينة الزيت المضاف إليه المستخلص المائي أقل مقارنة مع العينة الشاهدة والعينات المضاف إليها كلاً من المستخلص الكحولي ومستخلص الكلوروفورم حيث كانت 5.58 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ **زيت** للعينة الشاهدة وصلت بعد ستة أشهر إلى 6.83 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ **زيت**.

بينما وصلت في عينات الزيت المضاف لها المستخلص المائي 5.59 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ **زيت** ، المستخلص الإيثانولي 5.66 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ **زيت** وكانت 5.68 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ **زيت** في عينة الزيت المضاف إليها مستخلص الكلوروفورم.

يعزى ذلك لاحتواء المستخلص المائي على النسبة الأعلى من المركبات الفينولية المضادة للأكسدة التي تمنع أو تحد من تكوين الهيدروبيروكسيد وتحديداً الثيمول والكارفاكرول. (Tea, K.; *et al*, 2006)

3- كانت نسبة الحموضة الحرة في جميع عينات الزيت المضاف لها المستخلص بتركيز 0.05% أعلى بالمقارنة مع نسبة الحموضة الحرة لعينة الشاهد ولكن لوحظ أن نسبة الحموضة الحرة للعينة المضاف إليها المستخلص المائي أقل مقارنة مع العينة الشاهدة والعينات المضاف إليها كلاً من المستخلص الكحولي ومستخلص الكلوروفورم حيث كانت 0.68 للعينة الشاهدة وصلت بعد ستة أشهر إلى 0.75%، بينما وصلت في عينات الزيت المضاف لها المستخلص المائي 0.69%، المستخلص الإيثانولي 0.72% أما في عينة الزيت المضاف إليها مستخلص الكلوروفورم كانت 0.73%. يعزى ذلك لاحتواء المستخلص المائي على النسبة الأعلى من المركبات الفينولية المضادة للأكسدة التي تمنع أو تحد من تكوين الهيدروبيروكسيد وتحديداً الثيمول والكارفاكرول. (Tea, K.; *et al*, 2006)

4- كانت القيمة اليودية في جميع عينات الزيت المضاف لها المستخلص بتركيز 0.05% أقل بالمقارنة مع القيمة اليودية لعينة الشاهد، ولكن لوحظ أن القيمة اليودية للعينة المضاف إليها المستخلص المائي أعلى مقارنة مع العينة الشاهدة والعينات المضاف إليها كلاً من المستخلص الكحولي ومستخلص الكلوروفورم عل حدى حيث كانت 90.32 للعينة الشاهدة وصلت بعد ستة أشهر إلى 82.14، بينما وصلت في عينات الزيت المضاف له المستخلص المائي 90.31، المستخلص الإيثانولي 90.29 أما في عينة الزيت المضاف إليه مستخلص الكلوروفورم كانت 90.26.

يعزى ذلك لاحتواء المستخلص المائي على النسبة الأعلى من المركبات الفينولية المضادة للأكسدة لمكونات التي تمنع أو تحد من تكوين الهيدروبيروكسيد وتحديداً الثيمول والكارفاكرول. (Tea, K.; *et al*, 2006)

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج (شاهد) المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (3): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج (شاهد) المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.482	2.588	2.659	2.872	3.014	3.368
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.70	0.73	0.75	0.81	0.85	0.95
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.283	1.284	1.366	1.594	1.706	1.884
قيمة البيروكسيد	5.58	6.42	6.64	6.83	7.97	8.53	9.42
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	13.839	13.079	12.945	12.253	10.808	9.522
القيمة اليودية	90.32	78.81	82.99	82.14	77.75	68.58	60.42

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج (شاهد) المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (4): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج (شاهد) المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.446	2.446	2.482	2.482	2.730	2.836
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.69	0.69	0.70	0.70	0.77	0.80
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.112	1.138	1.142	1.502	1.544	1.704
قيمة البيروكسيد	5.58	5.65	5.69	5.71	7.51	7.72	8.52
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.231	14.230	14.228	14.185	14.162	14.092
القيمة اليودية	90.32	90.30	90.29	90.28	90.01	89.86	89.42

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.05% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (5): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.05% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.412	2.446	2.482	2.482	2.482
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.68	0.69	0.70	0.70	0.70
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.116	1.116	1.118	1.118	1.12
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.58	5.58	5.59	5.59	5.60
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.235	14.231	14.230	14.228	14.225
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.32	90.30	90.29	90.28	90.26

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.05% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (6): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.05% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.412	2.412	2.412	2.446	2.446
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.235	14.235	14.235	14.235	14.231
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.30

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.1% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (7): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.1% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.446	2.446	2.517	2.517	2.517
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.69	0.69	0.71	0.71	0.71
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.118	1.118	1.12	1.122	1.122
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.59	5.59	5.60	5.61	5.61

ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.231	14.228	14.228	14.223	14.217
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.30	90.28	90.28	90.25	90.21

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.1% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (8): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.1% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.412	2.412	2.446	2.446	2.446
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.69
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116	1.118
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.59
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.235	14.235	14.235	14.233	14.230
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.32	90.32	90.31	90.31	90.29

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.2% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (9): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.2% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.446	2.446	2.482	2.553	2.553
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.69	0.69	0.70	0.72	0.72
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.118	1.118	1.118	1.112	1.112
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.59	5.59	5.59	5.61	5.61
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.231	14.230	14.228	14.223	14.215
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.30	90.29	90.28	90.25	90.20

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.2% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (10): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.2% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.412	2.446	2.446	2.482	2.482
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.70	0.70
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116	1.118
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.59
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.235	14.235	14.233	14.233	14.228
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.32	90.32	90.31	90.31	90.28

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.4% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (11): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.4%
المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.446	2.446	2.517	2.553	2.553
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.69	0.69	0.71	0.72	0.72
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.118	1.118	1.112	1.112	1.124
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.59	5.59	5.61	5.61	5.62
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.230	14.228	14.222	14.209	14.201
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.29	90.28	90.24	90.16	90.11

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.4% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (12): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.4%
المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.412	2.446	2.446	2.482	2.482
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.68	0.69	0.69	0.70	0.70
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.116	1.116	1.116	1.118	1.118
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.59	5.59
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.231	14.231	14.230	14.222	14.215
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.30	90.30	90.29	90.24	90.20

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.6% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (13): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.6%
المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.446	2.446	2.482	2.517	2.588	2.588
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.69	0.69	0.70	0.71	0.73	0.73
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.118	1.118	1.112	1.112	1.112	1.126
قيمة البيروكسيد	5.58	5.59	5.59	5.60	5.61	5.61	5.63
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.223	14.217	14.211	14.201	14.192
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.25	90.21	90.17	90.11	90.05

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.6% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (14): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 0.6%
المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.412	2.412	2.482	2.517	2.517
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.68	0.68	0.70	0.71	0.71
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.116	1.116	1.118	1.12	1.12	1.124
قيمة البيروكسيد	5.58	5.58	5.58	5.59	5.60	5.60	5.62
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.217	14.214	14.206	14.298	14.185
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.21	90.19	90.14	90.09	90.01

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 1% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (15): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 1% المخزن في عبوات شفافة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.446	2.446	2.517	2.588	2.659	2.659
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.69	0.69	0.71	0.73	0.75	0.75
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.12	1.112	1.126	1.126	1.13	1.13
قيمة البيروكسيد	5.58	5.60	5.61	5.63	5.63	5.65	5.65
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.271	14.214	14.206	14.198	14.185
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.21	90.19	90.14	90.09	90.01

يبين الجدول التالي الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 1% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء، الإيثانول والكلوروفورم).

جدول (16): قيم الحجوم المستهلكة من KOH في معايرة زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج بتركيز 1% المخزن في عبوات عاتمة مدة عام كامل باستخدام مزيج من المستخلصات الثلاثة (الماء والإيتانول والكلوروفورم)

العينة	1	2	3	4	5	6	7
حجم KOH المستهلك	2.412	2.412	2.412	2.446	2.553	2.624	2.624
نسبة الحموضة الحرة	0.68	0.68	0.68	0.68	0.72	0.74	0.74
ثيوكبريتات الصوديوم	1.116	1.118	1.12	1.112	1.112	1.126	1.126
قيمة البيروكسيد	5.58	5.59	5.60	5.61	5.61	5.63	5.63
ثيوكبريتات الصوديوم	14.235	14.235	14.226	14.223	14.215	14.211	14.201
القيمة اليودية	90.32	90.32	90.27	90.25	90.20	90.17	90.11

طبقت هذه الحجوم التي تمّ الحصول عليها في العلاقات الحسابية المبينة في طرائق العمل وتمّ الحصول على قيم كل من البيروكسيد واليود ونسبة الأحماض الدهنية الحرة.

تمّ الحصول على النتائج المبينة في الجداول رقم (17) و (18) و (19) بالإضافة إلى نتائج التحليل الإحصائي التالية:

2- قيمة البيروكسيد Peroxide Value :

يبين الجدول رقم (2) نتائج التحليل الإحصائي لقيمة البيروكسيد لعينات زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج (غير مضاف لها مستخلص أوراق الزعتر البري) والمعالج بإضافة مستخلص أوراق الزعتر البري والمخزن لمدة عام كامل في عبوات زجاجية شفافة معرضة للضوء وأخرى عاتمة حيث لحظ وجود فروق معنوية واضحة وعالية عند مستوى ($P<0.001$) ما بين تراكيز المستخلص المضافة، طريقة التخزين (عبوة شفافة أو عاتمة)، زمن التخزين وفي التأثير المشترك للعوامل الثلاثة.

جدول (17): تغيرات قيمة البيروكسيد لعينات زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن مع الزمن (ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ زيت)

الزمن (شهر)	زيت الزيتون البكر غير المعالج		زيت الزيتون البكر المعالج										متوسط القيم بالنسبة للزمن
			0.05%		0.1%		0.2%		0.4%		0.6%		1%	
	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة
2020/1	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58
2020/3	6.42	5.65	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.58	5.59	5.58	5.60	5.59	5.64
2020/5	6.64	5.69	5.58	5.58	5.59	5.58	5.59	5.58	5.59	5.58	5.59	5.58	5.61	5.60	5.72
2020/7	6.83	5.71	5.58	5.58	5.59	5.58	5.59	5.58	5.59	5.58	5.60	5.59	5.63	5.61	5.83
2020/9	7.97	7.51	5.59	5.58	5.60	5.58	5.59	5.58	5.61	5.58	5.61	5.60	5.63	5.61	5.89
2020/11	8.53	7.72	5.59	5.58	5.61	5.58	5.61	5.58	5.61	5.59	5.61	5.60	5.65	5.63	6.02
2021/1	9.42	8.52	5.60	5.58	5.61	5.59	5.61	5.59	5.62	5.59	5.63	5.62	5.65	5.63	6.14
متوسط القيم بالنسبة لتراكيز المستخلص	7.0800		5.5862		5.5864		5.5864		5.591		5.5948		5.6135		
متوسط القيم بالنسبة للعبوات الشفافة	5.8748								متوسط القيم بالنسبة للعبوات العاتمة				5.7958		

التحليل الإحصائي	$^{(1)}F_{pr}$	$^{(2)}$L.S.D
المتوسطات بالنسبة لتراكيز المستخلص	<.001	0.00823
المتوسطين بالنسبة لطريقة التخزين	<.001	0.01539
المتوسطات بالنسبة لزمن التخزين	<.001	0.01539
التأثير المشترك للعوامل الثلاثة	<.001	0.05758

1) مستوى المعنوية حسب فيشر Fischer Propability تم حسابها ببرنامج إحصائي GenStat.

2) أقل فرق معنوي Least Significant Differences، تم حسابه ببرنامج إحصائي GenStat.

توضيح رموز التحليل الإحصائي المعتمدة في الجداول كما يلي:

(1) مستوى المعنوية حسب فيشر **F_{pr}** (Fischer Propability)، تم حسابها ببرنامج إحصائي GenStat. والمقصود بها مدى أهمية العوامل المؤثرة في إحداث فرق ملحوظ في قيمة الصفة المدروسة. عند F_{pr} 0.05 > يكون مستوى المعنوية ضعيف (غير معنوي non significant)، وكلما كانت قيمة Fpr صغيرة كان مستوى المعنوية جيد. مثال 0.001>Fpr أي 99% من الفروق في الصفة المدروسة سببها العامل المؤثر.

(2) أقل فرق معنوي LSD (Least Significant Differences)، تم حسابه ببرنامج إحصائي GenStat. حيث يتم مقارنة الفرق في قيم الصفة المدروسة مع قيمة L.S.D فعندما يكون الفرق أكبر من قيمة L.S.D يكون الفرق معنوي أي فرق ملحوظ significant بمعنى أدى العامل المؤثر إلى إحداث تغير ملحوظ في قيمة الصفة المدروسة أما عندما يكون الفرق في القيم أصغر من قيمة L.S.D يكون الفرق غير معنوي أي كان التغير في الصفة المدروسة، تحت تأثير عامل ما تغيراً غير ملحوظ (صغير جداً أو معدوم).

نستنتج من الجدول السابق ما يلي:

1- كانت قيمة البيروكسيد لعينات الزيت المخزن في عبوات زجاجية عاتمة أخفض بالمقارنة مع مثيلاتها لعينات الزيت المخزنة في عبوات شفافة، وقد أظهرت النتائج وجود فروقات معنوية إيجابية مع الزمن أي ازدادت قيمة البيروكسيد مع الزمن، أي كان الانخفاض في قيمة البيروكسيد بسبب اختلاف طريقة التخزين ملحوظاً حيث كانت في

الزيت المخزن في العبوات الشفافة في بداية التخزين 5.58 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ **زيت** وصلت بعد ستة أشهر إلى 6.83 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ زيت وإلى 9.42 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ زيت بعد عام من التخزين، بينما كانت قيمة البيروكسيد في الزيت المخزن في عبوات عاتمة في بداية التخزين 5.58 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ زيت وصلت بعد ستة أشهر إلى 5.71 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ زيت ووصلت إلى 8.52 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ زيت بعد عام من التخزين. بدت التغيرات أكثر وضوحاً بعد ستة أشهر من التخزين ويفسّر ذلك بدخول الصيف وارتفاع درجات الحرارة وتعتبر درجة الحرارة من أهم العوامل التي تساعد في أكسدة الأحماض الدهنية، وتتأثر هذه التفاعلات بشدة الضوء إذ يلعب الضوء دوراً كبيراً في الأكسدة وتسرع الأشعة الضوئية التي أطوالها الموجية أقل من 380 نانو متر (الأشعة فوق البنفسجية) تفاعل الأكسدة وتشكيل هيدروبيروكسيدات تتفكك لتعطي بيروكسيدات غير مستقرة لا تلبس أن تفكك إلى جذور حرة مما يؤدي إلى ارتفاع البيروكسيد بشكل كبير. التوكوفيرولات الموجودة في زيت الزيتون نفسها تتأكسد وتؤدي الأكسدة المعتدلة للتوكوفيرولات إلى تكوين توكوكوينون وهي مادة غير مضادة للأكسدة وتحت ظروف الأكسدة المعتدلة نفسها فإن الغاما توكوفيرول وليست الألفا أو البيتا توكوفيرول هي التي تحولت جزئياً إلى كرومان 5 ,6- كوينون وهذا الأخير ليس له خواص منع الأكسدة من الأوكسجين.

2- كانت قيمة البيروكسيد في جميع عينات الزيت المضاف لها المستخلص بتراكيز مختلفة أقل بالمقارنة مع قيمة البيروكسيد لعينة الزيت غير المعالج (الشاهد) وكانت الفروق معنوية (ملحوظة) بين قيمة البيروكسيد والتي سببها تغير تركيز المستخلص. ولكن نجد انخفاضاً في قيمة البيروكسيد عند التركيز 0.05% (التركيز المثالي) حيث وصلت بعد ستة أشهر إلى 5.58 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ في الزيت المخزن في الحالتين الشفافة والعاتمة، وبلغت بعد عام في الزيت المخزّن في العبوات الشفافة و5.60 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ وبقيت 5.58 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ في الزيت المخزّن في عبوات عاتمة. ثم تلاها في النتيجة التركيزين 0.1% و 0.2% من المستخلص حيث وصلت قيمة البيروكسيد بعد ستة أشهر إلى 0.59 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ في الزيت المخزّن في العبوات الشفافة و5.58 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ في الزيت المخزّن في عبوات عاتمة (الزيت المعالج بإضافة مستخلص بهذين التركيزين) ووصلت القيمة بعد عام من التخزين إلى 5.61 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ في الشفافة و5.59 ميلي مكافئ أكسجين فعال/1 كغ في العاتمة. يعزى ذلك أيضاً إلى النشاط المضاد للأكسدة لمكونات زيت الزعتر البري الأساسي الذي يمنع تكوين الهيدروبيروكسيد وتحديداً الثيمول والكارفاكرول. (Tea, K.; *et al*, 2006)

3- ازدياد قيمة البيروكسيد مع الزمن في جميع عينات الزيت المخزنة مع وجود فروق معنوية أي فروق ملحوظة في ازدياد قيمة البيروكسيد مع الزمن، ويفسّر ذلك بدخول الصيف وارتفاع درجات الحرارة والأكسدة الذاتية للزيت بفعل أكسجين الهواء الموجود في عبوات التخزين حيث لم يتم سحب الهواء من العبوات، بالإضافة إلى فتح العبوات كل شهرين لأخذ عينات للتحليل. ولكن كانت قيمة البيروكسيد في عينات الزيت المعالج بمستخلص أوراق الزعتر البري تتزايد بقيم أقل مع الزمن بالمقارنة عينة الزيت غير المعالج ناتج عن فعالية مستخلص أوراق الزعتر البري كمضاد أكسدة، وهذه نتيجة طبيعية إذ لا يمكن إيقاف عملية الأكسدة بشكل نهائي.

3 –القيمة اليودية Iodine Value:

بينت نتائج التحليل الإحصائي للقيمة اليودية لعينات الزيت غير المعالج والمعالج بإضافة مستخلص أوراق الزعتر البري والمخزنة لمدة عام كامل في عبوات زجاجية شفافة معرضة للضوء وأخرى عاتمة وجود فروق معنوية (واضحة) عالية عند مستوى ($P<0.001$) ما بين تراكيز مستخلص أوراق الزعتر البري المضافة، طريقة التخزين (عبوة شفافة أو عاتمة)، زمن التخزين وفي التأثير المشترك للعوامل الثلاثة.

يبين الجدول التالي تغيرات القيمة اليودية لكافة عينات زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن مع الزمن

جدول (18): تغيرات القيمة اليودية لعينات زيت الزيتون البكر الممتاز المخزن مع الزمن

الزمن (شهر)	زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج		زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج										متوسط القيم بالنسبة للزمن
			0.05%		% 0.1		% 0.2		% 0.4		% 0.6		% 1	
	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة
2020/1	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32
2020/3	87.81	90.30	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	90.32	89.92
2020/5	82.99	90.29	90.32	90.32	90.30	90.32	90.30	90.32	90.29	90.30	90.21	90.25	90.21	90.27	89.76
2020/7	82.14	90.28	90.30	90.32	90.28	90.30	90.29	90.32	90.28	90.30	90.19	90.21	90.19	90.25	89.55
2020/9	77.75	90.01	90.29	90.32	90.28	90.31	90.28	90.31	90.24	90.29	90.14	90.17	90.14	90.20	89.34
2020/11	68.58	89.86	90.28	90.32	90.25	90.31	90.25	90.31	90.16	90.24	90.09	90.11	90.09	90.17	88.65
2020/1	60.42	89.42	90.26	90.30	90.21	90.29	90.20	90.28	90.11	90.20	90.01	90.05	90.01	90.11	88.59
متوسط القيم بالنسبة لتراكيزالمستخلص	83.959		90.308		90.296		90.296		90.264		90.226		90.209		
متوسط القيم بالنسبة للعبوات الشفافة	88.48								متوسط القيم بالنسبة للعبوات العاتمة				90.251		

التحليل الإحصائي	F_{pr}	L.S.D
المتوسطات بالنسبة لتراكيز المستخلص	<.001	0.1208
المتوسطين بالنسبة لطريقة التخزين	<.001	0.226
المتوسطات بالنسبة لزمن التخزين	<.001	0.226
التأثير المشترك للعوامل الثلاثة	<.001	0.8454

نستنتج مما سبق ما يلي:

1 – انخفاضاً معنوياً (واضحاً) في القيمة اليودية لجميع عينات الزيت سواء المعالجة أو غير المعالجة عند تخزينها في عبوات شفافة معرضة للضوء بالمقارنة مع العينات المخزنة في عبوات عاتمة وذلك بسبب تحطم الروابط المضاعفة (الثنائية) بفعل الأكسدة الضوئية للزيت وبالتالي انخفاض القيمة اليودية.

كانت في عينة الزيت غير المعالج (الشاهدة) 90.32، بلغت بعد ستة أشهر 82.14 من التخزين في العبوة الشفافة و90.28 في العبوة العاتمة، ووصلت بعد عام من التخزين في عبوة شفافة معرضة للضوء 60.42 والمخزنة في عبوة عاتمة 89.42.

2 – تزايداً معنوياً (واضحاً) في القيمة اليودية في جميع عينات الزيت المضاف لها مستخلص أوراق الزعتر البري بتراكيز مختلفة بالمقارنة مع عينة الشاهد. ونلاحظ أن القيمة اليودية عند التركيز 0.05 أعلى حيث وصلت بعد ستة أشهر إلى 90.30 في زيت الزيتون البكر المخزن في العبوة الشفافة و90.32 المخزن في العبوة العاتمة، وبلغت بعد عام في الزيت المخزّن في العبوة الشفافة 90.25 و 90.30 في الزيت المخزّن في عبوة عاتمة. ثم تلاها في النتيجة التركيزين 0.1% و 0.2% من المستخلص حيث وصلت القيمة اليودية بعد ستة أشهر إلى 90.28 في الزيت المخزّن في العبوات الشفافة و90.29 على الترتيب، بينما كانت في الزيت المخزّن في عبوات عاتمة (الزيت المعالج بإضافة مستخلص بهذين التركيزين) 90.32. ووصلت القيمة بعد عام من التخزين إلى 90.21 و 90.20 في العبوات الشفافة على الترتيب و90.29 و 90.28 في العبوات العاتمة على الترتيب.

3– انخفاض القيمة اليودية مع الزمن في جميع العينات المخزنة، مع وجود فروق معنوية أي انخفاض قيم القيمة اليودية كان ملحوظاً مع مرور الزمن بسبب تحطم الروابط الثنائية بفعل الأكسدة الذاتية

4– نسبة الحموضة الحرة Free Acidity percent:

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي نسبة الحموضة الحرة في عينات الزيت غير المعالج والمعالج والمخزنة لمدة عام كامل في عبوات زجاجية شفافة معرضة للضوء وأخرى عاتمة وجود فروق معنوية عالية عند مستوى ($P<0.001$) ما بين تراكيز مستخلص أوراق الزعتر البري المضافة، طريقة التخزين (عبوة شفافة أو عاتمة)، زمن التخزين وفي التأثير المشترك للعوامل الثلاثة كما هو واضح في الجدول رقم (4).

جدول (19): نسبة الحموضة الحرة لعينات زيت زيتون البكر الممتاز (mg KOH 0.1 N/1 g oil)

الزمن (شهر)	زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج		زيت الزيتون البكر الممتاز المعالج										متوسط القيم بالنسبة للزمن
			0.05%		0.1%		0.2%		0.4%		0.6%		1%	
	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة
2020/1	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68
2020/3	0.70	0.69	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.68	0.69	0.68	0.69	0.68	0.68
2020/5	0.73	0.69	0.68	0.68	0.69	0.68	0.69	0.68	0.69	0.68	0.69	0.68	0.69	0.68	0.68
2020/7	0.75	0.70	0.69	0.68	0.69	0.68	0.69	0.69	0.69	0.69	0.70	0.68	0.71	0.68	0.69
2020/9	0.81	0.70	0.70	0.68	0.71	0.69	0.70	0.69	0.71	0.69	0.71	0.69	0.73	0.72	0.71
2020/11	0.85	0.77	0.70	0.69	0.71	0.69	0.72	0.70	0.72	0.70	0.73	0.71	0.75	0.74	0.72
2020/1	0.95	0.80	0.70	0.69	0.71	0.69	0.72	0.70	0.72	0.70	0.73	0.71	0.75	0.74	0.73
متوسط القيم بالنسبة لتراكيزالمستخلص	0.68		0.6836		0.69		0.6929		0.6936		0.6979		0.7078		
متوسط القيم بالنسبة للعبوات الشفافة	0.711								متوسط القيم بالنسبة للعبوات العاتمة				0.6927		

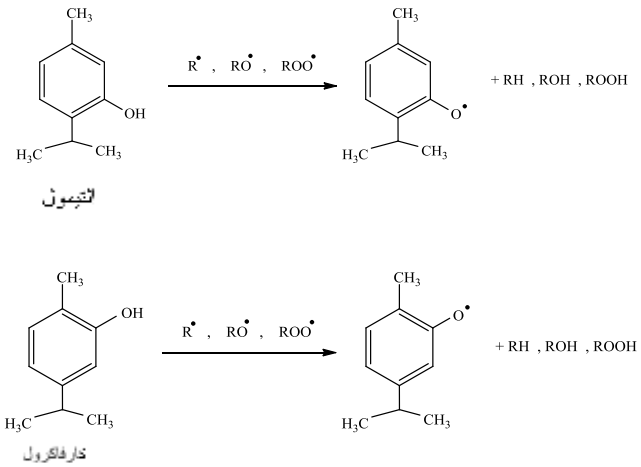
التحليل الإحصائي	F_{pr}	L.S.D
المتوسطات بالنسبة لتراكيز المستخلص	<.001	0.00577
المتوسطين بالنسبة لطريقة التخزين	<.001	0.0108
المتوسطات بالنسبة لزمن التخزين	<.001	0.0108
التأثير المشترك للعوامل الثلاثة	<.001	0.0404

نستنتج من هذا الجدول ما يلي:

1- ارتفاعاً معنوياً (واضحاً) في نسبة الحموضة الحرة مع الزمن بسبب التحلل المائي للروابط الإستيرية بفعل الرطوبة الجوية وارتفاع نسبة الأحماض الدهنية الحرة ولكن كانت القيم في عينات الزيت المعالج أقل من عينات الزيت غير المعالج (الشاهد). كانت في عينة الزيت غير المعالج 0.68% أصبحت بعد ستة أشهر من التخزين في عبوة شفافة 0.75% أما المخزن في عبوة عاتمة 0.70%، وبعد عام من التخزين كانت في عينة الزيت المخزنة في عبوة شفافة 0.95% وفي العبوة العاتمة 0.80%.

2- انخفاضاً معنوياً (واضحاً) في قيم قيمة الحموضة للعينات المخزنة في العبوات العاتمة بالمقارنة مع العبوات الشفافة المعرضة للضوء الذي يؤدي إلى تلف وتدمير مضادات الأكسدة الموجودة في الزيت وهذا يقلل كثيراً من قيمته الغذائية. وتعتبر مضادات الأكسدة من أحد المركبات الهامة التي يحتويها زيت الزيتون، ويعمل الضوء الساقط على الزيت المخزن في أوعية شفافة على إتلاف هذه المركبات الكيميائية، ومما يسرع من هذه العملية وجود الأوكسجين (الهواء الجوي) داخل أوعية الحفظ. يعمل الكلوروفيل كمحسس ضوئي مما يؤدي إلى أكسدة سريعة للزيت والمكونات المضافة وفقدان اللون، أن الكاروتين والتوكوفيرول تم تدميرهما بسرعة أكبر عندما كان الكلوروفيل موجودًا. (Eleni, P.; Maria, T.; 2002)

3- إن نسبة الحموضة الحرة في عينات الزيت المعالج أقل معنوياً (بشكل واضح) بالمقارنة مع مثيلاتها في الزيت غير المعالج، وكانت نسبة الحموضة الحرة في عينات الزيت المعالج بالمستخلص ذي التركيز 0.05% أقل والذي يعتبر التركيز المثالي حيث كانت نسبة الحموضة الحرة في الزيت المخزن في العبوة الشفافة المعرضة للضوء مدة ستة أشهر 0.69% وفي عينة الزيت المخزن في العبوة العاتمة 0.68%، وبعد عام من التخزين كانت 0.70% في الشفافة و0.69% في العاتمة. ثم الزيت المعالج بالتركيزين 0.1%، 0.2% من مستخلص الزعتر البري أقل بالمقارنة مع نسبة الحموضة الحرة عند التراكيز الأعلى، حيث بلغت في عينة الزيت المعالج والمخزن مدة ستة أشهر 0.69% في عبوات شفافة وعاتمة وبعد عام من التخزين في العبوات الشفافة كانت 0.71% و0.72% على الترتيب وفي الزيت المخزن في العبوات العاتمة 0.59% و0.70% على الترتيب. فدور مضاد الأكسدة يكمن في إعطاء جذور $H^{\bullet}$ فيتحرر بسهولة منها ليرتبط مع جذور البيروكسيد الحرة أو مع جذور الأحماض الدهنية الحرة فتختزلها كما ترتبط أيضاً الجذور الحرة لمضادات الأكسدة مع الجذور الحرة للبيروكسيدات أو الأحماض الدهنية فتمنعها من التفاعل مثال عن المركب العضوي الثيمول والكارفاكرول.



4- تعد التوكوفيرولات من أهم المجموعات المضادة للأكسدة المنتشرة في الطبيعة وهي مركبات تشبه فيتامين E ويوجد منها أربعة هي ألفا، بيتا، غاما ودلتا توكوفيرول. وقد وجد الباحثون أن الغاما توكوفيرول أقوى تأثيراً كمانع للأكسدة من البيتا توكوفيرول وهذا بدوره أقوى من الألفا توكوفيرول كما أجريت تجارب لتقدير تأثيرها كمانعات أكسدة على دهون معرضة للحرارة للمساعدة على سرعة الأكسدة ووجد أن شأنها شأن أي مضاد للأكسدة فإن التوكوفيرولات نفسها تتأكسد وتؤدي الأكسدة المعتدلة للتوكوفيرولات إلى تكوين توكوكوينون وهي مادة غير مضادة للأكسدة وتحت ظروف الأكسدة المعتدلة نفسها فإن الغاما توكوفيرول وليست الألفا أو البيتا توكوفيرول هي التي تحولت جزئياً إلى كرومان 5 ,6- كوينون وهذا الأخير ليس له خواص منع الأكسدة من الأوكسجين.

مستخلص أوراق الزعتر البري المخزن:

تم اختبار فعالية مستخلص أوراق الزعتر البري المخزن في عبوة عاتمة مدة عام كامل بإضافته إلى عينات زيت الزيتون البكر الممتاز في عبوة شفافة وأخرى عاتمة بالتراكيز المدروسة لمدة ستة أشهر.

جدول (5): نسبة الحموضة الحرة لعينات زيت زيتون البكر الممتاز (إنتاج عام جديد) (mg KOH 0.1 N/1 g oil)

الزمن (شهر)	زيت الزيتون غير المعالج		زيت الزيتون المعالج											
			0.05%		% 0.1		% 0.2		% 0.4		% 0.6		% 1	
	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة	شفافة	عاتمة
2021/1	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57
2021/3	0.60	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57	0.57
2020/5	0.63	0.60	0.58	0.57	0.60	0.58	0.62	0.60	0.64	0.62	0.65	0.63	0.68	0.65
2021/7	0.67	0.64	0.60	0.59	0.62	0.60	0.64	0.62	0.66	0.64	0.69	0.65	0.72	0.68

يلاحظ في الجدول (5) أن نسبة الحموضة الحرة في عينات الزيت المعالج أقل بالمقارنة مع مثيلتها في الزيت غير المعالج، وكانت نسبة الحموضة الحرة في العينات المعالجة بالتركيز 0.05% أقل والذي يعتبر التركيز المثالي حيث كانت نسبة الحموضة الحرة في عينة الزيت المخزن في العبوة الشفافة المعرضة للضوء 0.57% وفي عينة الزيت المخزن في العبوة العاتمة 0.59%، وصلت بعد ستة أشهر إلى 0.60% و0.59% على الترتيب. ثم المعالجة بالتركيزين 0.1%، 0.2% من مستخلص الزعتر البري أقل بالمقارنة مع القيم عند التراكيز الأعلى، حيث بلغت في عينة الزيت المعالج بتركيز 0.1% والمخزنة في عبوة شفافة 0.62% والمخزن في عبوة عاتمة 0.60% بينما في التركيز 0.2% كانت 0.64 للشفافة و0.62 للعاتمة. وبالمقارنة مع نتائج قيم الحموضة الموضحة في الجدول رقم (4) يتبين أن المستخلص بعد تخزينه مدة عام كامل في عبوة عاتمة حافظ على فعاليته كمضاد أكسدة.

نجد مما سبق مايلي:

1- قيمة البيروكسيد في العينات المعالجة بمستخلص أوراق الزعتر البري تتزايد بقيم أقل مع الزمن بالمقارنة مع مثيلاتها في عينة الشاهد مما يدل على فعالية مستخلص أوراق الزعتر البري كمضاد أكسدة، وهذه نتيجة طبيعية إذ لا يمكن إيقاف عملية الأكسدة بشكل نهائي.

2- تعتبر قيمة البيروكسيد من أكثر المقاييس المستخدمة للدلالة على أكسدة الأحماض الدهنية غير المشبعة، وتعتمد كمية الهيدروبيروكسيدات المتشكلة على التركيب الكيميائي للزيت وبشكل خاص على درجة عدم التشبع للأحماض

الدهنية غير المشبعة من جهة، وعلى محتوى الزيت من مضادات الأكسدة وخاصة الفينولات الكلية من جهة أخرى، تتفاعل الأحماض الدهنية غير المشبعة مع أوكسجين الهواء فتتشكل الهيدروبيروكسيدات، التي تدخل في سلسلة من التفاعلات تؤدي إلى تدهور جودة الزيت من الناحية الكيميائية والحسية وبالتالي الصحية. وتعتبر درجة الحرارة من أهم العوامل التي تساعد في أكسدة الأحماض الدهنية، كما أنّها تتأثّر بشدة الضوء، وتكون هذه التفاعلات بطيئة عند التخزين في الظلام وتزداد سرعتها مع زيادة شدة الضوء وتبلغ أقصى سرعة لها تحت أشعة الشمس المباشرة. يُسرّع الضّوء من أكسدة الليبيدات أيضاً بوجود بعض المركبات الحساسة للضوء، وبشكل خاص الكلوروفيل، حيث تُثار الكترونات الكلوروفيل وتصل إلى مستوى تشكيل الجذر الحر من خلال امتصاص الطاقة الضوئية.

يعمل الضوء الساقط على زيت الزيتون المخزن في أوعية شفافة على إتلاف هذه المركبات الكيميائية، ويسرع من هذه العملية وجود الأوكسجين (الهواء الجوي) داخل أوعية الحفظ.

3- تعمل مضادات الأكسدة على كبح الجذور الحرّة المتواجدة في زيت الزيتون من خلال منح هيدروجين $H^{\cdot}$، وينتج عن ذلك جذور مضادات أكسدة مستقرّة نسبياً. يعد جذر مضاد الأكسدة أعلى ثباتاً من الجذور الحرّة لزيت الزيتون بسبب خاصة الرنين المغناطيسي في بنية حلقة الفينول. تمنح مجموعات الهيدروكسيل المتعددة للجزيء نشاطًا كبيرًا مضادًا للأكسدة.

4- يمكن تقدير نشاط مضادات الأكسدة عن طريق التحديد الكمي للمنتجات الأولية أو الثانوية للأكسدة التلقائية للدهون أو من خلال مراقبة المتغيرات الأخرى مثل قيمة البيروكسيد، القيمة اليودية ونسبة الحموضة الحرة بشكل عام، يتم التأخير في تكوين الهيدروبيروكسيد أو إنتاج منتجات ثانوية من التأكسد الذاتي بالطرائق الكيميائية أو الحسية.

5 – ارتفاع قيمة البيروكسيد ونسبة الحموضة الحرة لجميع عينات الزيت مع الزمن بسبب الأكسدة الذاتية والتحلل المائي للزيت، لكن هذا التزايد كان في عينات زيت الزيتون البكر المعالج أقل من عينات زيت الزيتون البكر غير المعالج، وهذا يعود لفعالية مستخلص الزعتر البري كمضاد أكسدة وفي ازدياد ثباتية الزيت تجاه عوامل الأكسدة.

6- أبدت القيمة اليودية انخفاضاً مستمراً في جميع عينات زيت الزيتون البكر مع الزمن بسبب تحطم الروابط المضاعفة بفعل الأكسدة الذاتية، وكانت أقل في عينات الزيت المعالج بالمستخلص بالمقارنة مع عينات الزيت غير المعالج، وهذا يشير إلى تأثير مستخلص أوراق الزعتر البري في خفض التغير في خصائص الزيت وزيادة ثباتيته.

7- أظهرت جميع عينات الزيت سواء المعالج أو غير المعالج عند تخزينه في عبوات عاتمه خواص ثباتية أفضل بالمقارنة مع مثيلاتها من عينات الزيت المخزن في عبوات شفافة معرضة للضوء وهذا يشير إلى تأثير الضوء في الزيت وخفض جودته وهذا ما يعرف بالأكسدة الضوئية للزيت.

8- ازدادت ثباتية الزيت في جميع عينات الزيت المضاف له المستخلص بمختلف التراكيز وذلك عند مقارنتها بعينة الزيت غير المعالج (الشاهد). وكان التركيز المثالي 0.05% ثم التركيزين 0.1% و0.2% أي تختلف فعالية المستخلص في الزيت باختلاف تركيزه.

9 –أظهرت نتائج المتغيرات الموضحة في الجداول السابقة المراحل الحرجة في تغير مكونات الزيت بعد ستة أشهر من التخزين لعينة زيت الزيتون البكر الممتاز غير المعالج بمستخلص أوراق الزعتر البري المخزن في عبوات شفافة. فحسب المواصفة القياسية لزيت الزيتون البكر الممتاز يجب أن تكون قيمة البيروكسيد $\geq$ 10 ، أما نسبة الحموضة الحرة يجب أن لا تتجاوز % 0.8 والقيمة اليودية بين 85 – 94. [17]

يلاحظ في الجداول السابقة أن قيم هذه المتغيرات للزيت المخزن في العبوات الشفافة خارج المواصفة القياسية، بينما للزيت المخزن في العبوات العاتمة أو المعالج بالمستخلص بقيت ضمن المواصفة القياسية.

10-إن الحفاظ على التركيب الكيميائي لزيت الزيتون الصافي أمرًا ضروريًا للحفاظ على خصائصه، لذلك من الضروري التحكم في بعض العوامل أثناء التخزين مثل التعرض للضوء أو درجة الحرارة أو وجود الأكسجين أو مادة التغليف المختارة، للحفاظ على جودته وإطالة عمره الافتراضي حتى استهلاكه حيث يكون مدة عام ضمن حفظ في شروط جيدة.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات

1 -أظهر مستخلص أوراق الزعتر البري فعالية عالية كمضاد أكسدة طبيعي عند إضافته بتراكيز مختلفة، إذ ازدادت ثباتية زيت الزيتون البكر تجاه عوامل الأكسدة، وحافظ على خصائصه مع الزمن عند مقارنته بعينات الزيت غير المعالج دون إحداث تغيرات حسية (طعم، لون، رائحة) في الزيت.

2- اختلفت فعالية المستخلص كمضاد أكسدة باختلاف تركيزه في الزيت، بتراكيز مختلفة، وكانت أفضل النتائج عند التراكيز القليلة، وكان التركيز المثالي 0.05% ثم نتائج التركيزين 0.1% و 0.2% من المستخلص.

3- يزيد مستخلص أوراق الزعتر البري من العمر التخزيني للزيت حوالي ستة أشهر زيادة عن مدة تخزينه بدون إضافة المستخلص وذلك أثناء تخزينه في عبوات شفافة معرضة للضوء، ومدة عام عند تخزينه في عبوات عاتمة.

4- كفاءة المستخلصات المائية أعلى من كفاءة المستخلصات الأخرى بسبب احتوائها على الفلافونويدات والفينولات والتانينات الذوابة في الماء بنسبة أعلى من المذيبات الأخرى والتي تعد من أقوى مضادات الأكسدة.

5- يفضل تخزين الزيت في عبوات عاتمة تجنباً لتأثير الضوء الذي يلعب دور الوسيط في الأكسدة الذاتية.

6 -احتفظ نبات الزعتر البري المجفف بفعالية مكوناته من مضادات الأكسدة أثناء تخزينه في درجة حرارة الغرفة مدة تزيد عن عام كامل.

Reference

(1) SHAHIDIQBAL, BHANGER M.I., *Stabilization of Sunflower Oil by Garlic Extract during Accelerated Storage***.** Food chemistry, 2007, 100, pp 246 - 254.

(2) ZIA-U.R.; FARZANA, H.;, *Utilization of Potato Peels Extract as a Natural Antioxidant in Soy Bean Oil*. Food Chemistry, 2004, 85, 215-220.

(3) ZIA-U. R.; *Citrus Peel Extract: A Natural Source of Antioxidant*. Food Chemistry, 2006 (99), pp 450-454..

(4) Azadeh M., et al, *Phenolics in Potato Peels: Extraction and Utilization as Natural Antioxidants*, World Applied Sciences Journal 2012, 18 pp 191-195.

(5) Nafiseh Z., et al, *Antioxidant efficacy of soybean cake extracts in soy oil protection*, May Journal of Food Science and Technology -Mysore-, 2017, 54 (7) pp 1-8.

(6) Talal, K.; Gamil , M., *Evaluation of Antioxidant Activity of Some Natural Extracts and Propyl Gallate in Refined Palm Oil*, Damascus University Magazine, 2011, (27) pp 213 - 228.

(7) Alia, N.; et al., *Stabilization studies of sunflower oil with antioxidants extracted from green and black cardamom*. J. Pharm. Sci., (30), 2017, pp.1317-1320.
(8) JARIĆ, S.; MITROVIĆ, M.; PAVLOVIĆ, P.; *Review of ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological study of Thymus serpyllum L. Evidence-based complementary and alternative medicine*, 2015.
(9) Michał A., et al, *Effects of γ-irradiation of wild thyme (Thymus serpyllum L.) on the phenolic compounds profile of its ethanolic extract*. Polish Journal of Food and Nutrition Sciences, 2017, 67.pp 309-315.
(10) Tea, K.; et al, *Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme*, Food Technology and Biotechnology, 2006,44(4) pp. 485-492.
(11) Seung, j. l.; et al, *Identification of volatile components in basil (Ocimum basilicum L.) and thyme leaves (Thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties*, 2005, PP. 131-137.
(12) Spectrophotometric determination of conjugated dienoic acid, method Ti La-64, and peroxide value, method cd 8-53, 1983 – *Official methods and recommended practices of the AOCS* 3rd. ed., champaign I 11.
(13) IUPAC, 1964 – Standard Method of the Oils and Fats, BS 543, P.85
(14) Official Methods of Analysis, 1993 – J. Am. Oil Chem. Soc., 5a - 40.
(15) Tea, K.; et al, *Antioxidant Activity of Aqueous Tea Infusions Prepared from Oregano, Thyme and Wild Thyme*, Food Technology and Biotechnology, 2006, 44(4) pp. 485-492.
(16) Eleni, P.; Maria, T.; *Stability of virgin olive oil. Photo-oxidation studies*, J Agric Food Chem, 2002.
(17) International Oliv Oil - statistical databases, 2010