

## استخراج و مقایسه میزان ماده اولئوروپین در ارقام گوناگون زیتون (*Olea europaea* L.) در دو منطقه رودبار و فارس

مژگان فرزانی سپهر<sup>۱</sup>، مه‌لثا قربانلی<sup>۲</sup> و مریم میرباقری<sup>۳\*</sup>

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه

۲- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

۳- نویسنده مسئول، کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه، پست الکترونیک: maryam\_5mn@yahoo.com

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۳۹۱

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: خرداد ۱۳۹۱

### چکیده

ترکیب‌های فنلی موجود در میوه زیتون یکی از عوامل بسیار مهمی است که تاکنون مورد توجه زیادی قرار گرفته‌است. فنل‌ها دارای خصوصیات داروشناختی و محتوی آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در میوه زیتون می‌باشند. اولئوروپین یکی از فراوان‌ترین و مهم‌ترین ترکیب‌های فنلی موجود در میوه و برگ‌های زیتون می‌باشد که تلخی میوه زیتون نیز ناشی از حضور اولئوروپین در آن است. اولئوروپین، یک استر هتروسیدیک از اسید النولیک و ۳،۴-دی هیدروکسی فنیل اتانول می‌باشد. لازم به ذکر است که استفاده از این ترکیب نقش بسزایی در سلامت دارد. در این پژوهش، میزان ترکیب موجود در ارقام گوناگون زیتون (*Olea europaea* L.) در دو منطقه رودبار و کازرون در فصل برداشت محصول مورد بررسی قرار گرفته و نسبت به استخراج اولئوروپین با متانول و تعیین میزان آن توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) با استفاده از استانداردها، اقدامات لازم انجام شد. مطابق بررسی‌های انجام شده مشخص شد که بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین میوه در فارس مربوط به زیتون زرد به میزان ۳۴/۳۱mg/g و در رودبار مربوط به زیتون فیشمی به میزان ۳۰/۲۵mg/g می‌باشد، در صورتی‌که پایین‌ترین میزان ترکیب اولئوروپین میوه در منطقه فارس مربوط به زیتون میشن به میزان ۹/۵۵mg/g و در منطقه رودبار مربوط به زیتون لچیبو به میزان ۱۰/۲۳mg/g بود. با توجه به داده‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که دلیل خوراکی بودن زیتون‌های رودبار به علت کمتر بودن محتوای ترکیب اولئوروپین و در نتیجه تلخی کمتر آنهاست. لازم به ذکر است که کاربرد دارویی ارقام گوناگون زیتون فارس بیشتر به دلیل میزان بیشتر ترکیب اولئوروپین موجود در آن می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: زیتون (*Olea europaea* L.)، اولئوروپین، کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC).

### مقدمه

در تحقیقات بعمل آمده بر روی زیتون معلوم گردید که مشخصه اصلی تلخی در میوه زیتون، اولئوروپین می‌باشد. اولئوروپین از جمله ترکیب‌های فنلی بسیار عمده، مهم و فراوان در میوه و برگ‌های زیتون (*O. europaea* L.) می‌باشد (Andrewes et al., 2003؛ Soler-Rivas et al., 2000؛ Esti et al., 1998). اولئوروپین یک استر هتروسیدیک از اسید النولیک  $\beta$ -گلیکوزیلات و هیدروکسی تیروزول (۳-۴-دی هیدروکسی فنیل اتانول) است و دارای یک ساختمان اولئوزیدی می‌باشد. بسیاری از مولکول‌های

زیتون با نام علمی *Olea europaea* L. شامل تقریباً ۳۵ تا ۴۰ گونه از خانواده اولئاسه (Oleaceae) بوده و در جهان کهن از حوزه دریای مدیترانه، شمال آفریقا، جنوب شرقی آسیا، شمال تا جنوب چین، اسکاتلند و شرق استرالیا پراکندگی گسترده‌ای داشته‌اند. برای اولین بار، حضور اولئوروپین در میوه زیتون توسط Bourquelot و Vintilesco (۱۹۰۸) معلوم گردید اما ساختار شیمیایی آن توسط Panizzi و همکاران (۱۹۶۰) تعیین شد.

دارند (Owen et al., 2000; Tripoli et al., 2005) و می‌توانند فعالیت‌های ضد میکروبی و ضد ویروسی داشته باشند (Federici & Bonghi, 1983; Bisignano et al., 1999).

مجموعه زیادی از مطالعات اپیدمیولوژی نشان می‌دهد که شیوع بیماری کرونری قلب (CHD) و برخی سرطان‌ها (از جمله سرطان کولون و سینه) در کشورهای مدیترانه‌ای در مقایسه با دیگر جوامع شمال اروپا کمتر می‌باشد (Keys, 1995) که به نظر می‌رسد این امر عمدتاً ناشی از ایمنی نسبی و عادات رژیم غذایی محافظ این منطقه جنوبی به دلیل مصرف روغن زیتون به‌عنوان منبع اصلی چربی می‌باشد.

### مواد و روشها

تهیه نمونه

به منظور بررسی میزان اولئوروپین در ارقام گوناگون زیتون در دو منطقه فارس و رودبار، نمونه‌های گیاهی ۱۵ نوع از ارقام میوه زیتون گونه *Olea europaea* L. در فصل برداشت محصول یعنی در اواخر شهریور و اوایل مهرماه سال ۱۳۸۹ جمع‌آوری و بلافاصله بعد از انتقال منجمد گردید. این ارقام از دو منطقه زیر کشت ایستگاه تحقیقاتی باغ مادری رودبار گیلان و ایستگاه تحقیقاتی کلکسیون درختان زیتون شهر کازرون وابسته به مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، برداشت گردید.

ارقام زیتون تهیه شده از ایستگاه تحقیقاتی باغ مادری رودبار گیلان عبارت است از: زیتون زرد محلی، زیتون روغنی، زیتون بلیدی، زیتون فیشمی، زیتون مازانیلا، زیتون سنگه، زیتون آریکن، زیتون لچیو، زیتون آمفی‌سیس و ارقام زیتون تهیه شده از ایستگاه تحقیقاتی کلکسیون درختان زیتون فارس شامل زیتون سنگه، زیتون میشن، زیتون آریکن، زیتون بلیدی، زیتون زرد و زیتون کرونائیکی می‌باشند.

موقعیت جغرافیایی دو منطقه رودبار و فارس

شهر رودبار زیتون

رودبار از شهرستان‌های جنوبی استان گیلان و مرکز آن شهر رودبار است. شهرت شهر رودبار به دلیل داشتن باغ‌های زیتون می‌باشد. برای آشنایی بیشتر با این شهرستان به اختصار به بررسی جغرافیای طبیعی و آب و هوای شهرستان رودبار پرداخته می‌شود.

ایزوله میوه و برگ‌های زیتون (*O. europaea* L.) از اولئوروپین مشتق شده‌اند که از طریق آگلیکون، توسط باز شدن حلقه اسید النولیک، با یک تنظیم دوباره به ترکیب سکواپریدوئید تبدیل می‌شود (Briante et al., 2000).

نقش اولئوروپین در طی مراحل نمو گیاهان توجه معدودی را به خود جلب کرده‌است، همچنین میزان اولئوروپین در مراحل نمو چندین گل و میوه تعیین گردیده‌است (Malik & Bradford, 2006a). به‌طور کلی اولئوروپین مهمترین و چشمگیرترین ترکیب فنلی، در کولتیوار زیتون است و می‌تواند به غلظت بالای  $140 \text{ mg.g}^{-1}$  براساس جسم خشک در زیتون‌های نارس (جوان) و به غلظت  $60-90 \text{ mg.g}^{-1}$  جسم خشک در برگ‌های آنها برسد (Amiot et al., 1986).

Esti و همکاران (۱۹۹۸) اولئوروپین را یکی از ترکیب‌های فنلی عمده و اصلی در زیتون‌های نارس دانستند، همچنان که Amiot و همکاران (۱۹۸۹) دریافتند که میزان اولئوروپین در طول نمو و آخرین مراحل بلوغ میوه در کولتیوارهای زیتون کاهش می‌یابد، در حالی که گلوکوزید اسید النولیک و دمتیل اولئوروپین افزایش می‌یابد (Amiot et al., 1986). در حقیقت، این ترکیب‌ها به‌عنوان یک نشانگر گونه پیشنهاد می‌گردد (Esti et al., 1998)؛ به‌عنوان مثال این ترکیب‌ها در بعضی از گونه‌های ایتالیایی به‌عنوان نشانگر می‌باشند (Ryan et al., 2003).

نقش اولئوروپین در جلوگیری از رشد درختان گونه‌ای از زیتون، کاهش و رشد کالوس زیتون، القاء برگشت‌پذیر دریچه استوماتال و تحریک ریشه تعیین گردیده‌است. همچنین اولئوروپین در آگروژن‌ها (دولیه‌ای‌ها) در جلوگیری از گل دادن آنها نقش دارد (Bonghi, 1986).

از نظر شیمیایی، اولئوروپین متعلق به سکواپریدوئیدها می‌باشد که به مقدار فراوان در خانواده‌های Oleaceae, Cornaleae, Gentianaceae و در بسیاری از گیاهان دیگر وجود دارد (Soler-Rivas et al., 2000).

استفاده از اولئوروپین نقش بسزایی در سلامت دارد. گزارش شده‌است که اولئوروپین و ترکیب‌های مربوط به آن مانند تیروزول، ورباسکویید و دمتیل اولئوروپین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، خطر ابتلا به بیماری کرونری قلب (انسداد شرایین) را کاهش می‌دهد (Manna et al., 2004)، همچنین این ترکیب‌ها نقش بسزایی در کاهش سرطان‌های مختلف

### جغرافیای طبیعی

شهرستان رودبار در مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۳۲ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۷ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و ۴۹ درجه و ۱۱ دقیقه تا ۵۰ درجه و ۵ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار مبدأ واقع شده است. این شهرستان با وسعت ۲۵۷۴ کیلومترمربع دومین شهرستان استان گیلان به لحاظ وسعت است. رودبار از شمال به رشت، از جنوب به استان قزوین، از شرق به شهرستان لاهیجان و رودسر و از غرب به فومن و استان زنجان محدود است.

### آب و هوا

شهرستان رودبار در کرانه سفیدرود و در منطقه‌ای کوهستانی قرار گرفته است و آب و هوای آن تحت تأثیر هوای خشک و نیمه‌خشک ناحیه مرکزی قرار دارد. شهرستان زیبای رودبار از نظر آب و هوایی دارای آب و هوای مدیترانه‌ای می‌باشد. رویش درختان زیتون در این منطقه گواه این موضوع است. این منطقه در مسیر بادهای دائمی دره سفیدرود قرار گرفته است که به بادهای منجیل معروف است.

### استان فارس

نمونه‌های تهیه شده از استان فارس، مربوط به شهرستان کازرون می‌باشد. این شهر یکی از شهرستان‌های استان فارس است که در جنوب ایران قرار دارد و در ۵۱ درجه ۳۹ دقیقه و ۱۵ ثانیه طول شرقی و ۲۹ دقیقه عرض شمالی واقع شده است. وسعت این شهرستان حدود ۴۱۱۹ کیلومتر مربع و ارتفاع متوسط آن از سطح دریا حدود ۹۵۰ متر می‌باشد. برای آشنایی بیشتر با این شهرستان به اختصار به بررسی آب و هوا، دما، بارش و رطوبت نسبی شهرستان کازرون پرداخته می‌شود.

### آب و هوا

شهرستان کازرون دارای آب و هوای گرم است. زمستان‌های آن همراه با بارندگی و تابستان‌های آن خشک می‌باشد. شدت گرما در مناطق مختلف این شهرستان متفاوت است، به این صورت که در جنوب آن هوا گرم است ولی در شمال آن که موقعیت کوهستانی دارد هوا نسبتاً ملایم

می‌باشد. کازرون در فصل بهار آب و هوایی بسیار مطبوع و دلنشین دارد.

### دما

طبق اطلاعات مربوط به ایستگاه کلیماتولوژی شهرستان کازرون در یک دوره ۲۴ ساله، می‌توان گفت که سردترین ماه سال، در دی ماه با میانگین درجه حرارت ۱۰/۴۲ درجه سانتی‌گراد و گرمترین ماه سال، تیرماه با میانگین درجه حرارت ۳۳/۱۶ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. درجه حرارت متوسط سالیانه این شهرستان ۲۱/۷۸ درجه سانتی‌گراد می‌باشد.

### بارش

متوسط بارندگی شهرستان کازرون براساس ایستگاه کلیماتولوژی در یک دوره ۲۴ ساله ۴۴۴/۰۵ میلی‌متر می‌باشد. بیشترین بارندگی مربوط به ماه‌های آذر، دی و بهمن می‌باشد، در حالی‌که در عین حال تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین ارقام ریزش‌های جوی سالیانه و ماهانه در سال‌های مختلف به چشم می‌خورد. در مجموع شهرستان کازرون جزء سه شهرستان پرباران استان فارس بوده و به‌طور کلی رژیم بارندگی در کازرون، مدیترانه‌ایست.

### رطوبت نسبی

میزان رطوبت و تبخیر در تمام مناطق شهرستان به غیر از نواحی اطراف دریاچه پریشان (فامور) به علت شرایط خاص منطقه، تقریباً یکسان است. متوسط رطوبت نسبی سالیانه براساس یک دوره ۲۴ ساله معادل ۵۸/۴۸٪ است. بالاترین درصد رطوبت نسبی در دی ماه و پایین‌ترین این درصد در خرداد ماه می‌باشد. میزان تبخیر پیش‌بینی شده در طی یک دوره ۱۱ ساله در یک ایستگاه کازرون برابر با ۳۸۸۳ میلی‌متر است که بیشترین آن مربوط به ماه‌های تیر و مرداد و کمترین آن مربوط به ماه‌های دی و بهمن می‌باشد.

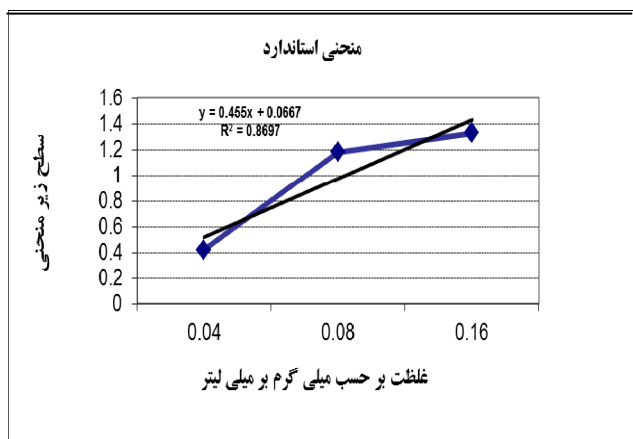
### استخراج اولئوروپین

در این پروژه به‌منظور اندازه‌گیری میزان ترکیب اولئوروپین، از ارقام گوناگون زیتون، اولئوروپین به روش Malik و Bradford (۲۰۰۶a) استخراج گردید. در این

گردید و ردیاب فوتودیود در ۲۸۰nm تنظیم شد و برای هر کدام یک منحنی در ستون HPLC نمایان گردید.

برای شناسایی مقادیر کمی اولئوروپین و دیگر ترکیب‌های فنلی در ماده استخراجی تزریق شده به دستگاه کروماتوگرافی، زمان نگهداری (Retention time: RT) و تفکیک UV ماده استخراجی، با پیک استاندارد اولئوروپین تطابق داده شد. لازم به ذکر است که این آزمون‌ها نیز به صورت سه بار تکرار (R1, R2, R3) انجام شده‌اند.

رسم منحنی کالیبراسیون برای نمونه استاندارد برای بدست آوردن منحنی کالیبراسیون مربوط به نمونه استاندارد، در ابتدا غلظت‌های متفاوتی از نمونه استاندارد تهیه شده (سه نمونه با غلظت‌های ۰/۰۳، ۰/۰۹ و ۰/۱۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) و پس از تزریق نمونه‌های استاندارد حاصل با غلظت‌های متفاوت به دستگاه HPLC، سطح زیر منحنی نمونه‌های استاندارد محاسبه شده و منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد طبق شکل ۱ به صورت غلظت بر حسب سطح زیر منحنی رسم گردید.



شکل ۱- منحنی کالیبراسیون نمونه استاندارد

به منظور اندازه‌گیری میزان اولئوروپین نمونه‌های مجهول، پس از رسم منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد می‌توان با داشتن سطح زیر طیف ماده مجهول و انطباق آن با نمودار کالیبراسیون، از طریق درونیابی غلظت ماده مجهول را بدست آورد (شکل ۲).

روش ابتدا هسته زیتون‌های منجمد شده توسط تیغه‌های جراحی جدا گردید. سپس به میزان ۱ گرم از میوه زیتون بدون هسته، توسط ترازوی چهار رقم اعشار توزین و در هاون ساییده و نرم شد. در ادامه بافت پودر شده، در ۱۰ml متانول ۸۰٪ توسط یک مخلوط‌کن با مدل (Brinkam Model PT 3100) با حداکثر سرعت، در مدت زمان ۳۰ ثانیه مخلوط و استخراج گردید. این امر طی سه مرحله و هر بار به مدت ۱۰ ثانیه انجام شد، سپس مخلوط بدست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در دور ۳۹۰۰۰×g سانتریفیوژ گردید. پس از اتمام عمل سانتریفیوژ، مایع شناور بر روی سطح دور ریخته شد و مجدداً رسوب آن با ۱۰ml متانول ۸۰٪ استخراج گردید و در انتها حجم نهایی استخراج بدست آمده توسط متانول به ۲۵ml رسانده شد. سپس استخراج بدست آمده از فیلتری با قطر منافذ ۲۰ میکرون عبور داده شده و عصاره صاف شده مستقیماً برای آنالیز با کمک دستگاه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه‌گیری میزان اولئوروپین ارقام گوناگون زیتون

#### مشخصات دستگاه HPLC

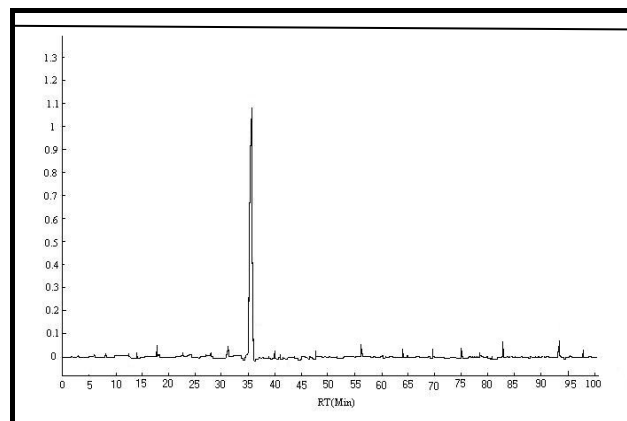
کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه‌گیری محصولات طبیعی، ترکیب‌های دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. یکی از روش‌های دقیق برای اندازه‌گیری ترکیب فنلی اولئوروپین، استفاده از دستگاه HPLC می‌باشد.

در این پروژه به منظور آنالیز و شناسایی میزان اولئوروپین موجود در ارقام گوناگون زیتون، دستگاه HPLC مدل Crystal-200 شرکت Unicam مورد استفاده قرار گرفت. ستون مورد استفاده برای تفکیک اولئوروپین از دیگر ترکیب‌های فنلی (۳/۹mm×۱۵۰mm) C<sub>18</sub> بوده و از محلول A یعنی استونیتریل ۱۰۰٪ و محلول B تری‌فلوروآستیک اسید ۰/۰۲٪ در آب استفاده گردید. در این دستگاه سرعت جریان محلول A و B در ستون‌ها ۱ml/min گزارش شده‌است.

پس از استخراج اولئوروپین ارقام مختلف زیتون توسط روش فوق، در ابتدا ۲۰ میلی‌لیتر از ماده استخراجی اولئوروپین بدست آمده، همچنین ۲۰ میلی‌لیتر از محلول استاندارد اولئوروپین طی مراحل جداگانه به دستگاه تزریق

### نتایج

مقایسه میزان اولئوروپین ۹ رقم زیتون در رودبار با توجه به جدول ۱ و شکل ۳ مشخص می‌شود که بالاترین میزان اولئوروپین در منطقه رودبار مربوط به زیتون فیشمی به میزان ۳۰/۲۵mg/g و کمترین مقدار مربوط به لچیبو به میزان ۱۰/۲۳mg/g می‌باشد. لازم به ذکر است که آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار (R1, R2, R3) اندازه‌گیری شده‌است.



شکل ۲- کروماتوگرام محلول استاندارد اولئوروپین (غلظت)

جدول ۱- مقایسه میزان اولئوروپین در ۹ رقم زیتون رودبار

Oleuropein AV±SE	Oleuropein mg/g			نام نمونه
	R3	R2	R1	
۱۸/۵۶ ± ۲/۶ def	۲۳/۱۹	۱۴/۱۷	۱۸/۳۳	بلیدی رودبار (B.R)
۱۱/۶۰ ± ۱/۲۸ ab	۱۴/۰۵	۹/۶۹	۱۱/۰۷	شنگه رودبار (Sh.R)
۱۰/۲۳ ± ۰/۵۳ a	۹/۳۰	۱۱/۱۵	۱۰/۲۶	لچیبو رودبار (L.R)
۱۵/۴۳ ± ۰/۷۲ cd	۱۴/۱۴	۱۶/۶۳	۱۵/۵۳	آریبکن رودبار (Ar.R)
۲۶/۴۵ ± ۰/۹۲ h	۲۷/۹۳	۲۴/۷۵	۲۶/۶۹	آمفی سیس رودبار (Am.R)
۳۰/۲۵ ± ۱/۰۶ i	۲۸/۵۰	۳۲/۱۶	۳۰/۱۰	فیشمی رودبار (F.R)
۲۱/۴۴ ± ۰/۷ fg	۲۲/۲۶	۲۰/۲۲	۲۱/۴۵	مانزانیلا رودبار (M.R)
۱۱/۶۰ ± ۰/۸۳ ab	۱۳/۰۲	۱۱/۶۶	۱۰/۱۳	زرد رودبار (Z.R)
۲۸/۵۰ ± ۰/۵۳ hi	۲۸/۳۰	۲۹/۵۲	۲۷/۷۰	روغنی رودبار (Ro.R)

نتایج با آزمون آماری دانکن مقایسه شد و حروف یکسان در هر نمونه نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلاف بین میانگین‌هاست.

جدول ۲- مقایسه میزان اولئوروپین در ۶ رقم زیتون در فارس

Oleuropein AV ± SE	Oleuropein mg/g			نام نمونه
	R3	R2	R1	
۲۲/۰۹ ± ۰/۶۳ g	۲۰/۹۶	۲۳/۱۷	۲۲/۱۶	بلیدی فارس (B.F)
۱۷/۱۷ ± ۰/۴۹ cde	۱۶/۲۶	۱۷/۳۰	۱۷/۹۶	آریبکن فارس (Ar.F)
۳۴/۳۱ ± ۰/۸۸ j	۳۴/۱۷	۳۵/۹۱	۳۲/۸۵	زرد فارس (Z.F)
۹/۵۵ ± ۰/۴۵ a	۱۰/۳۹	۸/۸۱	۹/۴۵	میسن فارس (Mi.F)
۱۹/۴۷ ± ۱/۴۱ efg	۲۱/۸۵	۱۹/۶۲	۱۶/۹۶	کرونائیکی فارس (Kr.F)
۱۴/۲۵ ± ۰/۵۹ bc	۱۵/۲۶	۱۴/۳۱	۱۳/۲۰	شنگه فارس (Sh.F)

نتایج با آزمون آماری دانکن مقایسه شد و حروف یکسان در هر نمونه نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلاف بین میانگین‌هاست.

منطقه رودبار مربوط به زیتون لچیبو به میزان  $10/23 \text{ mg/g}$  و در منطقه فارس مربوط به زیتون میشن به میزان  $9/55 \text{ mg/g}$  است.

لازم به ذکر است که این آزمون‌ها نیز به صورت سه بار تکرار (R1, R2, R3) انجام شده و شکل‌های حاصل با استفاده از داده‌های میانگین رسم شده‌است.

مقایسه میزان اولئوروپین در ارقام مختلف زیتون در دو منطقه رودبار و فارس

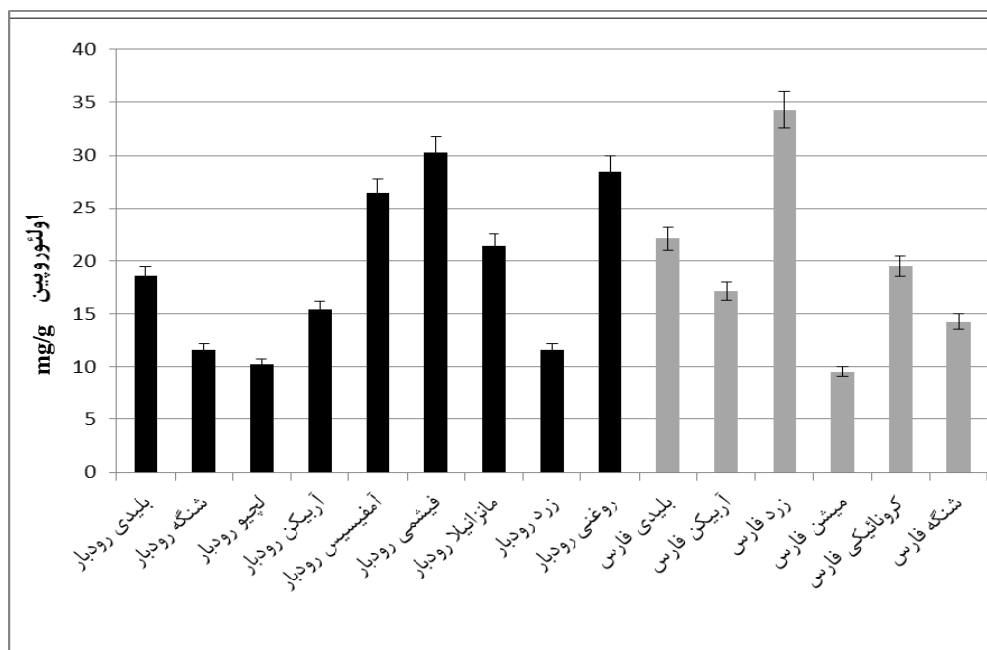
همان‌طور که قبلاً اشاره شد، از مجموع ۱۵ رقم تهیه شده از شهرهای رودبار و فارس، ۴ رقم بلیدی، سنگه، آریبکن و زرد در این دو شهر مشابه می‌باشند که این امر می‌تواند به خوبی مرجع مناسبی برای بررسی اثر جغرافیایی بر روی میزان الئوروپین ارقام مختلف زیتون تلقی گردد. در جدول ۳ مقادیر اولئوروپین این ۴ رقم زیتون که توسط دستگاه HPLC اندازه‌گیری شده، آمده‌است.

مقایسه میزان اولئوروپین ۶ رقم زیتون در فارس با توجه به جدول ۲ و همچنین شکل ۳ مشخص می‌شود که بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین در منطقه فارس مربوط به زیتون زرد فارس به میزان  $34/31 \text{ mg/g}$  و کمترین میزان ترکیب اولئوروپین مربوط به زیتون میشن فارس به میزان  $9/55 \text{ mg/g}$  می‌باشد.

در جدول ۲ مقادیر اولئوروپین اندازه‌گیری شده در ۶ رقم گوناگون زیتون مقایسه گردیده است. لازم به ذکر است که آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار (R1, R2, R3) اندازه‌گیری شده‌است.

شکل مقایسه میزان اولئوروپین در ۱۵ رقم زیتون در دو منطقه رودبار و فارس

همان‌طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود، بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین میوه در منطقه رودبار مربوط به زیتون فیشمی به میزان  $30/25 \text{ mg/g}$  و در منطقه فارس مربوط به زیتون زرد به میزان  $34/31 \text{ mg/g}$  می‌باشد، در صورتی که پایین‌ترین میزان ترکیب اولئوروپین میوه در



شکل ۳- نمودار مقایسه میزان اولئوروپین در ۱۵ رقم زیتون در دو منطقه رودبار و فارس

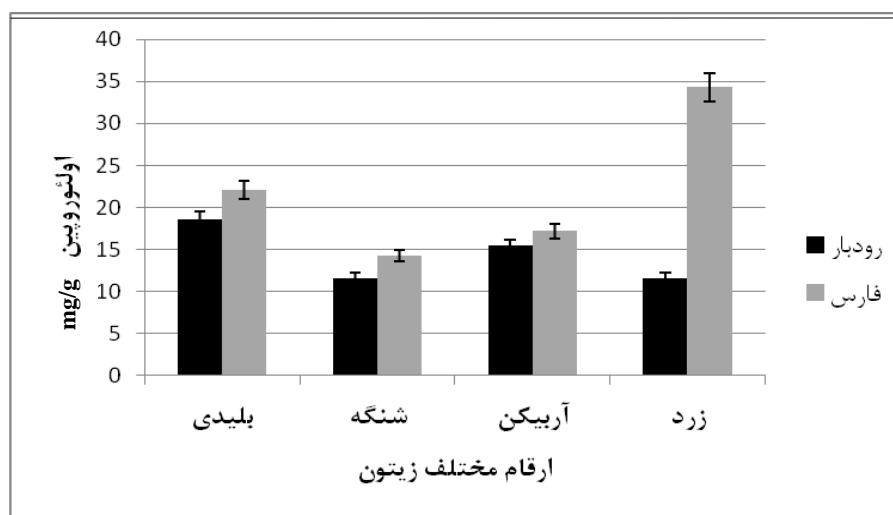
جدول ۳- مقایسه میزان اولئوروپین ۴ رقم مشابه در رودبار و فارس (mg/g)

نام نمونه	R1	R2	R3	AV±SE
(B.R) بلیدی رودبار	۱۸/۳۳	۱۴/۱۷	۲۳/۱۹	۱۸/۵۶ ± ۲/۶ cd
(B.F) بلیدی فارس	۲۲/۱۶	۲۳/۱۷	۲۰/۹۶	۲۲/۰۹ ± ۰/۶۳ d
(Sh.R) شنگه رودبار	۱۱/۰۷	۹/۶۹	۱۴/۰۵	۱۱/۶ ± ۱/۲۸ a
(Sh.F) شنگه فارس	۱۳/۲۰	۱۴/۳۱	۱۵/۲۶	۱۴/۲۵ ± ۰/۵۹ ab
(Ar.R) آرییکن رودبار	۱۵/۵۳	۱۶/۶۳	۱۴/۱۴	۱۵/۴۳ ± ۰/۷۲ abc
(Ar.F) آرییکن فارس	۱۷/۹۶	۱۷/۳۰	۱۶/۲۶	۱۷/۱۷ ± ۰/۴۹ bc
(Z.R) زرد رودبار	۱۰/۱۳	۱۱/۶۶	۱۳/۰۲	۱۱/۶ ± ۰/۸۳ a
(Z.F) زرد فارس	۳۲/۸۵	۳۵/۹۱	۳۴/۱۷	۳۴/۳۱ ± ۰/۸۸ e

نتایج با آزمون آماری دانکن مقایسه شد و حروف یکسان در هر نمونه نشان‌دهنده معنی‌دار نبودن اختلاف بین میانگین‌هاست.

اولئوروپین، مربوط به زیتون زرد رودبار و زیتون شنگه رودبار به میزان  $11/60 \text{ mg/g}$  می‌باشد که در نتیجه میزان ترکیب اولئوروپین در زیتون‌های فارس بالاتر از میزان ترکیب اولئوروپین در زیتون‌های رودبار است. میزان اولئوروپین در تمامی ارقام موجود در شهرستان کازرون استان فارس بیشتر از مقادیر حاصل در شهرستان رودبار استان گیلان می‌باشد.

شکل مقایسه میزان اولئوروپین در ۴ رقم مشابه زیتون در رودبار و فارس در شکل ۴ مقادیر اولئوروپین در ارقام بلیدی، شنگه، آرییکن و زرد در دو منطقه رودبار و فارس مقایسه گردیده‌است. با توجه به این نمودار مشاهده می‌شود که بالاترین میزان اولئوروپین در میوه تازه زیتون مربوط به زیتون زرد فارس به میزان  $34/21 \text{ mg/g}$  و کمترین میزان



شکل ۴- مقایسه تغییرات اولئوروپین در ۴ رقم مشابه زیتون در رودبار و فارس (نتایج با آزمون آماری دانکن مقایسه شده است.)

## بحث

چندین پارامتر می‌تواند غلظت فنلی در زیتون را تغییر دهد. بیشترین جنبه‌های مطالعاتی بر روی چهار عامل کولتیوار، رسیدن میوه، شرایط جغرافیایی و بعضی تکنیک‌های کشاورزی مانند آبیاری انجام شده است (Uceda; Pannelli et al., 1990; Brenes et al., 1999; et al., 1999).

در این پژوهش نیز به تأثیر شرایط جغرافیایی و نوع کولتیوار بر تغییر میزان غلظت فنلی کل و همچنین تغییر مقادیر اولئورویین در میوه زیتون کولتیوارهای مختلف در دو منطقه رودبار گیلان و کازرون فارس پرداخته شده است. لازم به ذکر است عواملی مانند تأثیر رطوبت، باد، بارش و ارتفاع از سطح دریا از جمله شرایط جغرافیایی مورد بررسی در تحقیق حاضر می‌باشند.

همان‌طور که می‌دانیم میزان رطوبت نسبی و بارش، با میزان باد و ارتفاع از سطح دریا رابطه معکوس دارد، یعنی هر چه میزان رطوبت نسبی و بارش در منطقه بیشتر باشد، میزان باد و ارتفاع از سطح دریا کمتر خواهد بود. بنابر تحقیقات انجام شده، میزان رطوبت و بارش نسبی در شهرستان کازرون استان فارس در مقایسه با شهرستان رودبار استان گیلان بیشتر بوده، در حالی که میزان وزش باد و ارتفاع از سطح دریا در شهرستان کازرون در مقایسه با شهرستان رودبار کمتر می‌باشد.

میزان اولئورویین در تمامی ارقام موجود در شهرستان کازرون استان فارس بیشتر از مقادیر بدست آمده در شهرستان رودبار استان گیلان می‌باشد که این امر می‌تواند ناشی از این باشد که ارتفاع شهرستان کازرون از سطح دریا در مقایسه با شهرستان رودبار کمتر بوده و به همین دلیل شهرستان کازرون دارای باد کمتر، خشکی کمتر و در نتیجه رطوبت و بارش نسبی بیشتری نسبت به شهرستان رودبار می‌باشد که این امر باعث افزایش درصد اولئورویین در ارقام زیتون موجود در استان فارس شده است.

همان‌طور که گفته شد، شهرستان رودبار در کرانه سفید رود و در منطقه‌ای کوهستانی قرار گرفته است و آب و هوای آن تحت تأثیر هوای خشک و نیمه‌خشک ناحیه مرکزی قرار دارد. این منطقه در مسیر بادهای دائمی دره سفیدرود قرار گرفته است که به بادهای منجیل معروف است. بنابراین می‌توان علت کاهش میزان رطوبت نسبی رودبار گیلان را بدان نسبت داد. به‌طور کلی در بررسی‌های انجام شده، میانگین میزان اولئورویین و فنل کل در میوه زیتون کولتیوارهای مختلف در

منطقه کازرون در مقایسه با منطقه رودبار بیشتر بوده که می‌توان عواملی مانند رطوبت نسبی و نیز بارش را از جمله عوامل مهم جغرافیایی در افزایش میزان اولئورویین دانست.

بالاترین میزان ترکیب اولئورویین میوه در منطقه رودبار مربوط به زیتون فیشمی به میزان ۳۰/۲۵mg/g و در منطقه فارس مربوط به زیتون زرد به میزان ۳۴/۳۱mg/g می‌باشد و بالاترین میزان فنل‌های کل در منطقه رودبار مربوط به زیتون آملی سیس به میزان ۴۱/۲۷mg/g و در منطقه فارس مربوط به زیتون آریکون به میزان ۴۳/۲۵mg/g می‌باشد.

Jaimand و همکاران (۲۰۰۹) بررسی‌هایی را در زمینه استخراج و مقایسه میزان اولئورویین در برگ و میوه گیاه زیتون (*O. europaea* L.) در سه استان گیلان، تهران و فارس انجام داده و به این نتیجه رسیدند که بالاترین میزان ترکیب اولئورویین در میوه تازه زیتون مربوط به استان گیلان و به میزان ۳۵۳۲۸ppm می‌باشد. مقدار اولئورویین در استان تهران و استان فارس به ترتیب ۲۹۷۴۰ppm و ۲۲۰۹۵ppm گزارش شده است. همچنین بالاترین میزان ترکیب اولئورویین در نمونه برگ زیتون در بهمن ماه در سه استان گیلان، تهران و فارس به ترتیب ۳۹۲۱۷ppm، ۳۳۶۶۵ppm و ۳۱۳۱۱ppm گزارش شده است. Jaimand و همکاران (۲۰۰۵) میزان رطوبت را در تشکیل این ترکیب مؤثر دانستند، که این امر با نتیجه تحقیقات حاضر هم‌سویی دارد. در این پژوهش، رطوبت عاملی مؤثر برای افزایش ترکیب اولئورویین در میوه زیتون می‌باشد، زیرا زیتون‌های منطقه فارس که از رطوبت بیشتری نسبت به منطقه رودبار برخوردار است دارای میزان ترکیب اولئورویین بیشتری می‌باشد.

نقش اولئورویین در طی مراحل نمو گیاهان توجه معدودی را به خود جلب کرده است و نیز میزان اولئورویین در مراحل نمو چندین گل و میوه تعیین گردیده است (Malik & Bradford, 2006b).

به‌منظور بررسی اثر جغرافیایی بر روی ترکیب‌های فنلی، واریته‌های مختلف چندین کشور (اسپانیا، ایتالیا، فرانسه و پرتغال) مورد مطالعه قرار گرفته است. از بین کشورهای ذکر شده، اسپانیا بزرگترین تولیدکننده روغن زیتون و زیتون‌های خوراکی در جهان می‌باشد. تعیین سهم فنل واریته‌های زیتون سیاه طبیعی اسپانیایی مختلف برای بدست آوردن شناختی بهتر از نمای تغییرات کمی و کیفی این ترکیب‌ها انجام شده است (Romero et al., 2002). نتایج نشان می‌دهند که داده‌ها از نظر



اولئوروپین از جمله ترکیب‌های فنلی بسیار عمده، مهم و فراوان در میوه و برگ‌های زیتون (*O. europaea* L.) است که مشخصه اصلی تلخی در میوه زیتون می‌باشد (Andrewes et al., 2003؛ Soler-Rivas et al., 2000؛ Esti et al., 1998؛ Panizzi et al., 1960؛ Amiot et al., 1986).

میوه زیتون، غنی از سکواپریدوئیدهاست. فراوان‌ترین سکواپریدوئیدهای موجود در پالپ میوه زیتون، اولئوروپین، دمتیل اولئوروپین و لیگ استروئید می‌باشد. سرچشمه تلخی در زیتون، اولئوروپین و لیگ استروئید است، به طوری که قبل از اینکه بتوانند خوردنی شوند، باید حذف گردند. اولئوروپین می‌تواند به مشتقات هیدرولیتیک آن تجزیه شود. این ترکیب‌ها از جمله فنل‌های عمده در میوه زیتون می‌باشند که ویژگی بیولوژیکی آنها مسلماً از مولکول منشأ آنها قابل تشخیص است (Panizzi et al., 1998؛ Bourquelot et al., 1908؛ Romani et al., 1999؛ Amoit et al., 1989؛ Soler-Rivas et al., 2000).

طی بررسی‌های انجام شده در تحقیق حاضر بالاترین میزان اولئوروپین در میوه تازه زیتون مربوط به زیتون زرد فارس به میزان ۳۴/۲۱ mg/g و کمترین میزان اولئوروپین، مربوط به زیتون زرد رودبار و زیتون شنگه رودبار به میزان ۱۱/۶۰ mg/g می‌باشد که در نتیجه میزان ترکیب اولئوروپین در زیتون‌های فارس بالاتر از میزان ترکیب اولئوروپین در زیتون‌های رودبار است.

همچنین بالاترین میزان ترکیب فنل کل مربوط به آریکن فارس به میزان ۴۳/۲۵ mg/g و کمترین مقدار مربوط به شنگه رودبار به میزان ۱۷/۲۶ mg/g می‌باشد. با توجه به داده‌های حاصل می‌توان نتیجه گرفت که دلیل خوراکی بودن زیتون‌های رودبار به علت کمتر بودن محتوای فنل کل و در نتیجه تلخی کمتر آنهاست. لازم به ذکر است که کاربرد دارویی ارقام گوناگون زیتون فارس بیشتر به دلیل میزان بیشتر فنل کل موجود در آن می‌باشد.

در تحقیق حاضر، به طور کلی میانگین میزان اولئوروپین و فنل کل در میوه زیتون کولتیوارهای مختلف در منطقه کازرون در مقایسه با منطقه رودبار بیشتر بوده، به همین علت می‌توان دلیل خوراکی بودن زیتون‌های رودبار و کاربرد دارویی زیتون‌های فارس را توجیه نمود که این امر ناشی از اثر اقلیم بر روی میزان فنل کل در مناطق مختلف کشور می‌باشد که

کمی بین گونه‌ها برای فنل‌های مشابه، با توجه به موقعیت جغرافیایی محل، ارتفاع، آب و هوا و رطوبت متفاوت است (Mulinacci et al., 2001). این بررسی نیز با تحقیق حاضر هم‌سویی دارد.

با مشاهداتی که توسط محققان دیگری بر روی کولتیوارهای متفاوتی از نواحی اسپانیا، یونان و ایتالیا انجام شده، نتایج مشابهی بدست آمده‌است (Garcia et al., 2001).

در ۱۱۶ نمونه روغن زیتون بکر حاصل از گیاهان صنعتی نواحی مختلف کشورهای مدیترانه‌ای، تغییرات و اختلافات شدیدی در میزان آگلیکون‌های سیکوئیریدوئید مانند 3,4-DHPEA-EDA و 3,4-DHPEA-EA مشاهده گردید (Montedoro et al., 1992).

دو نوع کولتیوار ایتالیایی مانند Coratina و Oliarola شاهد غلظت بالای فنل‌های هیدروفیلیک در روغن زیتون بکر می‌باشند (Stefanoudakii et al., 1999). یک مقایسه بین گونه‌های ایتالیایی مختلف، اختلاف معنی‌دار کمی را در بعضی پلی‌فنل‌ها مانند ورباسکوئید و مشتقات اولئوروپین نشان می‌دهد (Romani et al., 1999).

Jaimand و همکاران (۲۰۰۶) طی بررسی‌هایی در زمینه استخراج و مقایسه میزان ترکیب اولئوروپین در برگ ۹ رقم زیتون (*O. europaea* L.) کشت شده در ایستگاه تحقیقاتی فدک (دزفول) دریافتند که زیتون کولتیوار خرم‌آبادی بیشترین درصد اولئوروپین را داراست که به طور کلی می‌توان عواملی مانند تأثیر شرایط جغرافیایی و نوع کولتیوار را از جمله عوامل مهم جغرافیایی در افزایش میزان اولئوروپین دانست.

طبق گزارش‌هایی که توسط محققان مختلف ارائه شده‌است، ترکیب‌های فنلی میوه‌ها تحت تأثیر کیفیت کولتیوار قرار می‌گیرد. بنابراین در حقیقت اولئوروپین همیشه در تمام میوه‌های کولتیوار زیتون حضور دارد. از این رو این امر به عنوان نشانه‌ای برای خاستگاه ژنتیکی میوه‌ها پیشنهاد می‌گردد (Amiot et al., 1986).

به طور کلی، زیتون‌های بعضی کولتیوارها بیشتر برای تولید زیتون‌های خوراکی مناسبند، در حالی که بعضی دیگر برای تولید روغن مورد استفاده قرار می‌گیرند، البته تولید روغن از کولتیوارهای گوناگون با مشخصات متفاوت حاصل می‌گردد. این تفاوت‌ها وابسته به اختلاف در مشخصات شیمیایی کولتیوارهای زیتون می‌باشند (Vinha et al., 2002).

(2008b). بیشترین مقدار بیوفنل‌های یافت شده در OMW، اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول و تیروزول می‌باشد (Takaç & Karakaya, 2009).

### سیاسگزاری

با تشکر از استاد ارجمند جناب آقای دکتر جایمند که نقش ارزشمند و بسزایی در این تحقیق ایفا نمودند؛ و با قدردانی از جناب آقای دکتر بوجار (استاد محترم دانشگاه تربیت معلم) که در انجام آزمون‌های HPLC کمال همکاری را داشتند؛ و با سپاس از جناب آقای مهندس بوجاری و مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور که در تهیه نمونه‌ها و تنظیم مقاله ما را یاری کردند.

### منابع مورد استفاده

- Amiot, M.J., Fleuriet, A. and Macheix, J.J., 1986. Importance and evolution of phenolic compounds in olive during growth and maturation. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 34(5): 823-826.
- Amiot, M.J., Fleuriet, A. and Macheix, J.J., 1989. Accumulation of oleuropein derivative during olive maturation. *Phytochemistry*, 28: 67-69.
- Andrewes, P., Busch, J.L.H.C., de Joode, T., Groenewegen, A. and Alexandre, H., 2003. Sensory properties of virgin olive oil polyphenols: identification of deacetoxy-ligstroside aglycon as a key contributor to pungency. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 51(5): 1415-1420.
- Bisignano, G., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Crisafi, G., Uccella, N. and Saija, A., 1999. On the in vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(8): 971-974.
- Bongi, O., 1986. Oleuropein: an *Olea europaea* secoiridoid active on growth regulation. *Acta Horticulturae*, 179: 245-249.
- Bourquelot, E. and Vintilesco, J.C.R., 1908. Sur l'oleuropein, nouveau principe de nature glucosidique retré de l'olivier (*Olea europaea* L.). *Comptes rendus hebdomadaires des seances de l'Academie des sciences*, 147: 533-535.
- Brenes, M., Garcia, A., Garcia, P., Ríos, J.J. and Garrido, A., 1999. Phenolic compounds in Spanish olive oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 47(9): 3535-3540.
- Briante, R., La Cara, F., Febbraio, F., Barone, R., Piccialli, G., Carolla, R., Mainolfi, P., De Napoli, L., Patumi, M., Fontanazza, G. and Nucci, R., 2000. Hydrolysis of Oleuropein by recombinant beta-glycosidase from hyperthermophilic archaeon *Sulfolobus solfataricus* immobilised on chitosan matrix. *Journal of Biotechnology*, 77(2-3): 275-286.
- Esti, M., Cinquanta, L. and La Notte, E., 1998. Phenolic compounds in different olive varieties.

نتایج بدست آمده در این باره نیز با تحقیقات حاضر هم‌سویی دارند.

در ایران، مقدار زیادی میوه زیتون تلخی‌زدایی شده و برای فروش وارد بازار می‌گردد و پس آب آن به‌عنوان ضایعات، دور ریخته می‌شود. با جمع‌آوری این پس آب می‌توان ترکیب اولئوروپین را استخراج کرده و وارد صنعت دارویی کشور نمود (Jaimand *et al.*, 2009). در حال حاضر در ۲۴ استان کشور مبادرت به اصلاح باغ‌های زیتون شده‌است، بنابراین از تأثیرات دارویی و اثربخشی این گیاه می‌توان برای صنایع دارویی کشور استفاده نمود. در حال حاضر گونه‌های مختلفی از زیتون در شرایط آب و هوایی متفاوت ایران کشت می‌شود. با توجه به این‌که زیتون در طول سال همیشه سبز است، میزان ترکیب اولئوروپین آن می‌تواند در طول سالدر گیاه متفاوت باشد (Jaimand *et al.*, 2006).

در پژوهش حاضر هدف از استخراج و بررسی میزان اولئوروپین، استفاده از ترکیب اولئوروپین در صنایع دارویی کشور بود. زیتون‌های با تلخی بیشتر دارای درصد اولئوروپین بالاتری می‌باشند، بنابراین سرشار از ترکیب‌های فنلی و متابولیت‌های ثانویه مؤثر هستند. پس می‌توان از زیتون‌هایی که کاربرد غذایی ندارند به‌عنوان ترکیب‌های مهم دارویی استفاده نمود که بنابر بررسی‌های انجام شده این قبیل از درختان زیتون در کشور ما به فراوانی وجود دارند.

ویژگی‌های داروشناسی، ترکیب‌های مهم دارویی و رژیم غذایی میوه و برگ زیتون و همچنین روغن زیتون به خوبی شناخته شده‌است که به دلیل محتوای فنلی آنها می‌باشد. زیتون (*O. europaea* L.) حاوی ترکیب‌های فنلی شناخته شده‌است که مشخصات بیولوژیکی مهمی از جمله آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب، ضد میکروب، محافظ قلب، هیپوگلیسمی و سرطان را نشان می‌دهد (Obied *et al.*, 2007).

آب‌های زائد حاصل از آسیاب کردن زیتون (OMW)، شاخه فرعی تولید صنعتی استخراج روغن زیتون می‌باشد. این محصولات در مقادیر بسیار زیادی (۶-۷ میلیون تن در سال) تولید می‌شوند و مشخصه آنها بوی تند و شدید روغن زیتون، رنگ قهوه‌ای تند، pH بین ۳ تا ۶، تعیین ظرفیت ماده آلی غلیظ و ترکیب‌های فرار آن می‌باشد (Ginos *et al.*, 2006). از سوی دیگر، باید به قابلیت سودمند این ترکیب‌های فنلی در سلامت نیز توجه کرد. هم‌اکنون OMW را منبعی مؤثر در آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی می‌دانند (Obied *et al.*, 2008a & )

- phenol-conjugated oleosidic secoiridoids from *Olea europaea* L. *Natural Product Reports*, 25(6): 1167-1179.
- Obied, H.K., Karuso, P., Prenzler, P.D. and Robards, K., 2007. Novel secoiridoids with antioxidant activity from Australian olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(8): 2848-2853.
  - Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B. and Bartsch, H., 2000. Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of totalphenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chemistry Toxicology*, 38(8): 647-659.
  - Panizzi, L., Scarpati, M.L. and Oriente, G., 1960. Chemical structure of oleuropein, bitter glucoside of olive with hypotensive activity. *Gazzetta Chimica Italiana*, 90: 1449-1485.
  - Pannelli, G., Servili, M., Famiani, F. and Montedoro, G.F., 1990. Agro-climatic factors and characteristics of the composition of virgin olive oils. *Acta Horticulturae*, 286: 477-480.
  - Romani, A., Mulinacci, N., Pinelli, P., Vincieri, F.F. and Cimato, A., 1999. Polyphenolic content in five Tuscany cultivars of *Olea europaea* L., *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47(3): 967-969.
  - Romero, C., Brenes, M., Garcia, P. and Garrido, A., 2002. Hydroxytyrosol 4- $\beta$ -D-glucoside, an important phenolic compound in olive fruits and derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(13): 3835-3839.
  - Ryan, D., Prenzler, P.D., Lavee, S., Antolovich, M. and Robards, K., 2003. Quantitative changes in phenolic content during physiological development of olive (*Olea europaea* L.) cultivar Hardy's mammoth. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51(9): 2532-2538.
  - Soler-Rivas, C., Espin, J.C. and Wichers, H.J., 2000. Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(7): 1013-1023.
  - Stefanoudakii, E., Koutsaftakis, A.K., Kotsifaki, F., Angerosa, F. and DiGirolamo, M., 1999. Quality characteristics of olive oils dualphases, three-phases decanters and laboratory mill. *Acta Horticulturae*, 474: 705-708.
  - Takaç, S. and Karakaya, A., 2009. Recovery of phenolic antioxidants from olive mill wastewater. *Recent Patents on Chemical Engineering*, 2: 230-237.
  - Tripoli, E., Giammanco, M., Tabacchi, G., Di Majo, D., Giammanco, S. and La Guardia, M., 2005. The phenolic compounds of olive oil: structure, biological activity and beneficial effects on human health. *Nutrition Research Reviews*, 18: 98-112.
  - Uceda, M., Hermoso, M., Garcia-Ortiz, A., Jimenez, A. and Beltran, G., 1999. Intraspecific variation of oil contents and the characteristics of oils in olive cultivars. *Acta Horticulturae*, 474: 659-652.
  - Vinha, A.F., Silva, B.M., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Pereira, J.A. and Oliveira, M.B.P.P., 2002. Development and evaluation of an HPLC/DAD method for the analysis of phenolic compounds from olive fruits. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technology*, 25: 151-160.
  - *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46: 32-35.
  - Federici, E. and Bongi, G., 1983. Improved method for isolation of bacterial inhibitors from oleuropein hydrolysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(2): 509-510.
  - Garcia, A., Brenes, M., Martinez, F., Alba, J., Garcia, P. and Garrido, A., 2001. High performance liquid chromatography evaluation of phenols in virgin olive oil during extraction at laboratory and industrial scale. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(6): 625-629.
  - Ginos, A., Manios, T. and Mantzavinos, D., 2006. Treatment of olive mill effluents by coagulation flocculation-hydrogen peroxide oxidation and effect on phytotoxicity. *Journal of Hazardous Materials*, 133: 135-142.
  - Jaimand, K., Rezaee, M.B. and Ashtiany, A.N., 2005. Extraction and identification of oleuropein in residue waste water of washing fruits of *Olea europaea* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 21(2): 217-225.
  - Jaimand, K., Rezaee, M.B., Abravesh, Z., Golipoor, M. and Sharifee, M., 2006. Extraction and Determination of Oleuropein in Nine Varieties of *Olea europaea* L. cultivated in Fadak Research Station (Dezful). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 22(1): 74-78.
  - Jaimand, K., Rezaee, M.B., Ashtiany, A.N. and Golipoor, M., 2009. Extraction and compare of oleuropein compound in *Olea europaea* L. in three province state of Gilan, Tehran and Fars. *Journal on Plant Science Research*, 4: 1-8.
  - Keys, A., 1995. Mediterranean diet and public health: personal reflections. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(6): 1321S-1323S.
  - Malik, N.S.A. and Bradford, J.M., 2006a. Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in 'Arbequina' olives. *Scientia Horticulturae*, 110(3): 274-278.
  - Malik, N.S.A. and Bradford, J.M., 2006b. Virgin; oils against oxidative stress in human cells. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50: 6521-6526.
  - Manna, C., Migliardi, V., Golino, P., Scognamiglio, A., Galletti, P., Chiariello, M. and Zappia, V., 2004. Oleuropein prevents oxidative myocardial injury induced by ischemia and reperfusion. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 15(8): 461-468.
  - Montedoro, G.F., Servili, M., Baldioli, M. and Miniati, E., 1992. Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil. 2: Initial characterization of the hydrolyzable fraction. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 40(9): 1577-1580.
  - Mulinacci, N., Romani, A., Galardi, C., Pinelli, P., Giaccherini, C. and Vincieri, F.F., 2001. Polyphenolic content in olive oil waste waters and related olive samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8): 3509-3514.
  - Obied, H.K., Prenzler, P.D. and Robards, K., 2008a. Potent antioxidant biophenols from olive mill waste. *Food Chemistry*, 111: 171-178.
  - Obied, H.K., Prenzler, P.D., Ryan, D., Servili, M., Taticchi, A., Esposito, S. and Robards, K., 2008b. Biosynthesis and biotransformations of

## Extraction and comparison of oleuropein content in different cultivars of olive (*Olea europaea* L.) at Fars and Rudbar

M. Farzami Sepehr<sup>1</sup>, M. Ghorbanli<sup>2</sup> and M. Mirbagheri<sup>3\*</sup>

1- Department of Biology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

2- Department of Biology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran

3\*- Corresponding Author, Department of Biology, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran

E-mail: maryam\_5mn@yahoo.com

Received: May 2012

Revised: August 2012

Accepted: August 2012

### Abstract

Phenolic compounds are one of the most important factors in olive, which has been considered greatly. Phenols have pharmacological characteristics and contain natural antioxidants in olive. Oleuropein is one of the most abundant and important phenolic compounds in fruits and leaves of olive, which causes the bitter taste of olive. Oleuropein is a heterosidic ester of elenolic acid and 3,4-dihydroxy phenyl ethanol. It is worth mentioning that the use of this compound has a significant role in health. In this study, the amount of existing compounds in different cultivars of olive (*Olea europaea* L.) was studied during harvesting season in two regions of Rudbar and Kazeroun, and oleuropein was extracted with methanol and its amount was determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). According to the conducted researches, it was found that the highest composition rate of fruit oleuropein was recorded for yellow olive in Fars (34.31 mg/g) and for Fyshmy olive in Rudbar (30.25 mg/g). However, the lowest composition rate of fruit oleuropein was recorded for Mishen olive in Fars (9.55 mg/g) and for Lechyolive in Rudbar (10.23 mg/g). Based on the provided data, it can be concluded that more edibility of Rudbar olives may be due to the lower level of oleuropein compound, resulting in less bitterness. Notably, the medicinal usage of different types of Fars olives is due to the higher level of oleuropein compounds.

**Key words:** Olive (*Olea europaea* L.), oleuropein, High Performance Liquid Chromatography (HPLC).