



جمهوری اسلامی ایران
وزارت جهاد کشاورزی
سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی
مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

فصلنامه پژوهشی
تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران

شماره پیاپی ۲۸ جلد ۲۱ شماره ۲ سال ۱۳۸۴

فهرست مطالب

- اثردند میکربی اسانس گیاه *Ammi visnaga* (L.) Lam بر برخی از باکتریهای فلور دهان .. ۱۳۹
زهرا آبروش، احمد مجد، محمد باقر رضایی و صدیقه مهربان
مطالعه تاثیر سرماي مصنوعي و طبيعي بر روي برخی شاخص های مورفولوژیک و فیزیولوژیک
ارقام زیتون ۱۴۹
علی سلیمانی، حسین لسانی و سید رضا طبائی عقدایی
بررسی برخی ویژگیهای اکولوژیکی گونه دارویی *Zataria multiflora* Boiss. در استان
هرمزگان ۱۶۱
رحمان اسدیپور و محمدامین سلطانی پور
تاثیر محل جمع آوری و تیمارهای پیش رویشی بر روی صفات جوانه زنی بذر گونه دارویی
Zhumeria majdae Rech. f. & Wendelbo ۱۷۵
عبدالمحمد حاجبی و محمد امین سلطانی پور
بررسی ویژگیهای روشنگامی و برخی ترکیبهای شیمیایی گیاه *Ferula gumosa* Boiss در استان قم. ۱۹۵
سید مهدی ادنایی، حسین بشری و حسین باقری
بررسی تاثیر محلول پاشی کود نیتروژن دار بر عملکرد گیاه دارویی *Melissa officinalis* L.
تحت شرایط گلخانه ای ۲۱۳
پهلول عباس زاده، ابراهیم شریفی عاشورآبادی، محمد رضا اردکانی و فرزاد پاک نژاد
استخراج و تعیین میزان ترکیب اولسوروپین در پساب حاصل از شستشوی میوه
Olea europa L. ۲۲۴
کامکار جابینده، محمد باقر رضایی و اکبر نجفی آشتیانی
مطالعه تنوع موجود در صفات مورفولوژیکی ژنوتیپهای گل محمدی (*Rosa damascena* Mill.)
جمع آوری شده از شش استان مرکزی کشور ۲۳۳
سیدرضا طبائی عقدائی، ساسان فرهنگیان، علی اشرف جعفری و محمدباقر رضایی
بررسی اثر تیمارهای زخمی کردن، آپسیزیک اسید و سالیسیلیک اسید روی تولید پارتولید و
فعالیت آنسی اکسیدان در گیاهچه های ریزاردیادی شده و کالوس گیاه
Tanacetum parthenium L. ۲۴۸
سمان عاکف، فرانسواز برنارد، حسین شاکر و علیرضا قاسمیپور
بررسی میزان اسانس گیاه *Melissa officinalis* در طی دوره رشد در دو منطقه ارسباران و
ملکان ۲۶۷
یوسف ایمانی

استخراج و تعیین میزان ترکیب اولئوروپین در پساب حاصل از شستشوی میوه *Olea europa L.*

کامکار جایمند^۱، محمد باقر رضایی^۱ و اکبر نجفی آشتیانی^۲

چکیده

بررسی ترکیبهای فنلی از عوامل مهم در تحقیقات میوه زیتون می‌باشد، زیرا این ترکیبها دارای پایداری خود اکسایش و خصوصیات اثر گذاری بر اندامهای گیاهی هستند. علاوه براین، آنها دارای خصوصیات داروشناختی، ضد اکسید کننده‌های طبیعی و مانع رشد در تخمیر میوه زیتون هستند. اولئوروپین، ترکیب اصلی که باعث تلخی مزه در زیتون است، یک استر هتروسیدیک از اسید النولیک و 3,4-dihydroxyphenylethanol می‌باشد.

در این تحقیق پساب حاصل از شستشوی میوه زیتون، که در مهر ۱۳۸۳ از منطقه گیلوان طارم سفلی (از توابع زنجان) جمع آوری شده بود، جهت استخراج ترکیب اولئوروپین مورد استفاده قرار گرفت. بعد جهت شناسایی و بررسی میزان ترکیب اولئوروپین از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و با استفاده از استانداردها اقدامات لازم انجام شد. در این بررسی میزان ترکیب اولئوروپین در دو نمونه پساب (آب نمک) ۰/۰۰۱۰ mg/ml درصد و در پساب (سود) ۰/۰۰۱۶ mg/ml درصد حاصل شد.

واژه‌های کلیدی: زیتون، اولئوروپین، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)

۱- اعضای هیأت علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران: صندوق پستی ۱۱۶ - ۱۳۱۸۵

پست الکترونیکی: Jaimand@rifr-ac.ir

۲- کارشناس موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

مقدمه

زیتون از جمله درختان بی خزان، همیشه سبز و مقاوم است که بدون دخالت انسان بار می‌دهد و سالها مورد استفاده بشر قرار گرفته است. در بعضی از کتابهای قدیمی به آن لفظ درخت جاویدان اطلاق شده است، زیرا دارای عمری طولانی بوده و حتی عمر آن به دوهزار سال می‌رسد.

جنس زیتون (*Olea*) از خانواده (*Oleaceae*) دارای ۳۵ الی ۴۰ گونه است که معروفترین گونه آن زیتون معمولی یا زیتون خوراکی با نام علمی *Olea europa L.* است که در دورترین نقاط دنیا کشت می‌شود. میوه آن دارای هسته‌ای، به شکل بیضی یا مخروطی که لایه وسطی^۱ گوشتی، خوراکی و غنی از لیپید می‌باشد. گوشت میوه زیتون ۶۵ الی ۸۳ درصد از کل وزن میوه و هسته میوه زیتون ۱۳ الی ۳۰ درصد از کل وزن میوه را تشکیل می‌دهد. ابعاد و شکل هسته زیتون بر حسب ارقام مختلف متفاوتند. پوسته خارجی^۲ میوه زیتون که به گوشت میوه چسبیده است، در هنگام رسیدن از سبز کم رنگ (زیتون سبز) به رنگ بنفش و قرمز (زیتون دو رنگ) و سرانجام به رنگ مشکی (زیتون سیاه) تبدیل می‌شود.

پوسته داخلی^۳ زیتون که از یک هسته دوکی شکل و بسیار سخت تشکیل شده است و حاوی یک دانه مرکب از آلبومین سلولی به نام بادامک می‌باشد.

ترکیب غذایی در میوه و روغن زیتون زیاد است، که پیوسته ریسک کمی از بیماری قلبی سرخرگی و سرطال دارد (Keys, ۱۹۹۵ و Trichopoulou & Lagiou, ۱۹۹۷). نقش مثبت روغن زیتون در رابطه با ترکیبهای اسید چرب و وجود ترکیبهای فنلی در آن می‌باشد. منابع زیادی در رابطه با ترکیبهای فنلی در زیتون خام و روغن زیتون

¹ - Misocarpe

² - Exocarp

³ - Endocarp

تصفیه نشده موجود می‌باشد. بهر حال، مطالعات زیادی روی تغییراتی از ترکیبهای مهم در طی رشد گیاه متمرکز شده است (Brenes-Balbuena et al, ۱۹۹۲, brenes et al, ۱۹۹۵ و Marsilio et al, ۲۰۰۱).

سطح زیر کشت باغات آبی بارور ۱۴۸۴۴ هکتار و آبی غیر بارور ۴۸۹۴۴ هکتار (باغات غیر بارور حداکثر طی ۵ سال قابلیت باروری پیدا می‌کنند)، سطح زیر کشت باغات دیم بارور ۶۴۷ هکتار و دیم غیر بارور ۳۷۶۲ هکتار، در مجموع سطح زیر کشت باغات زیتون کشور معادل ۶۸۱۹۷ هکتار می‌باشد. میزان تولید در باغات آبی ۴۵۱۳۵ تن و باغات دیم ۲۸۵ تن می‌باشد. در حال حاضر در ۲۴ استان کشور مبادرت به اصلاح باغات زیتون نموده اند، از این میان استان فارس با ۱۲۱۸۴ هکتار بیشترین سطح زیر کشت و استان کردستان با ۴ هکتار کمترین سطح زیر کشت را دارا می‌باشند (آمار نامه کشاورزی، ۸۲-۱۳۸۱).

در میان خیلی از ترکیبهای شیمیایی گیاهی به عنوان درمان کننده، ترکیب اولئوروپین^۱ که Oh - lee - or - oh - pin تلفظ می‌شود و در برگ و میوه زیتون وجود دارد از اهمیت ویژه ای برخوردار است. این ترکیب یک مکمل طبیعی و دارای فواید دارویی مهمی می باشد، بالا بردن انرژی بیماران و کمک به بهبود زونا و تب خال و بهبود بیماری های ویروسی، مانند آنفلوآنزا و سرماخوردگی ، عفونت قارچی ، کوفتگی مزمن و ضد آلرژی می‌باشد.

در میوه زیتون وجود گلوکوزئید اولئوروپین و روغن چرب تأیید شده است. در برگها و میوه زیتون برای پائین آوردن قند خون موثر بوده است. عصاره آبی برگ زیتون فشار خون را پائین می‌آورد و نوعی از ترکیبهای کولین می‌باشد. به علاوه یک لاکتون غیر اشباع و النولید^۲ و الثوروپتیک اسید^۱ نیز وجود دارد. در برگ آن نیز کمی مواد قندی،

^۱- Oleuropein

^۲- Elenolide

تانن، موم، اسید گالیک و مانیت وجود دارد. ۷۰ درصد روغن زیتون اولئین مخلوط با پالمیتین است به علاوه زیتون دارای فیتوسترول است که باعث کم شدن چربی خون می‌گردد (صانعی، ۱۳۷۸).

در تحقیقاتی که انجام شده، نتایج نشان می‌دهد که زمان رسیدن میوه باعث کاهش ترکیبهای فنلی موجود در میوه زیتون می‌گردد. میوه هرچه رسیده تر باشد ترکیبهای فنلی نیز کاهش می‌یابد. یکی از خصوصیات مهم وجود ترکیبهای فنلی با فعالیت ضد اکسید کنندگی در برگها، میوه و یا روغن زیتون است که از جمله این ترکیبهای فنلی می‌توان اولئوروپین که به مقدار زیادی در برگ (۶۰ الی ۹۰ میلی گرم در ماده خشک) و میوه وجود دارد، نام برد. این ترکیب یک استرگلوکوزیدی از النولئیک اسید^۱ با هیدروکسی تیروزول^۲ است (Amiot et al, ۱۹۸۹).

مواد و روشها

روش تلخ زدایی

در ایران، به دو روش از میوه زیتون تلخ زدایی (برای تهیه زیتون شور و کنسروی) می‌کنند. زیتون شکسته و سالم را معمولاً توسط آب نمک با غلظت ۸ الی ۱۰ درصد (نمک غیر یددار)، و یا زیتون سالم شور یا کنسروی توسط سود (از ۱ الی ۵ درصد) با زمانهای مختلف تلخی زدایی می‌کنند. در تحقیق حاضر، از محلول سود ۲ درصد و مقدار زمان ماندگاری ۱۵ ساعت در نظر گرفته شده است.

^۱ - Oleuropeic acid

^۲ - Elenolic acid

^۳ - Hydroxytyrosol

نمونه مورد آزمایش در مهر ۱۳۸۳ از منطقه گیلوان طارم سفلی (از توابع استان زنجان) جمع‌آوری گردید.

درخصوص نسبت زیتون کنسروی به روغنی آمار مشخصی در دست نیست ولی بر اساس برآورد محلی با توجه به شرایط قیمت بازار حجم زیتون کنسروی بین ۲۰ الی ۴۰ درصد در سالهای مختلف متفاوت است.

روش استخراج

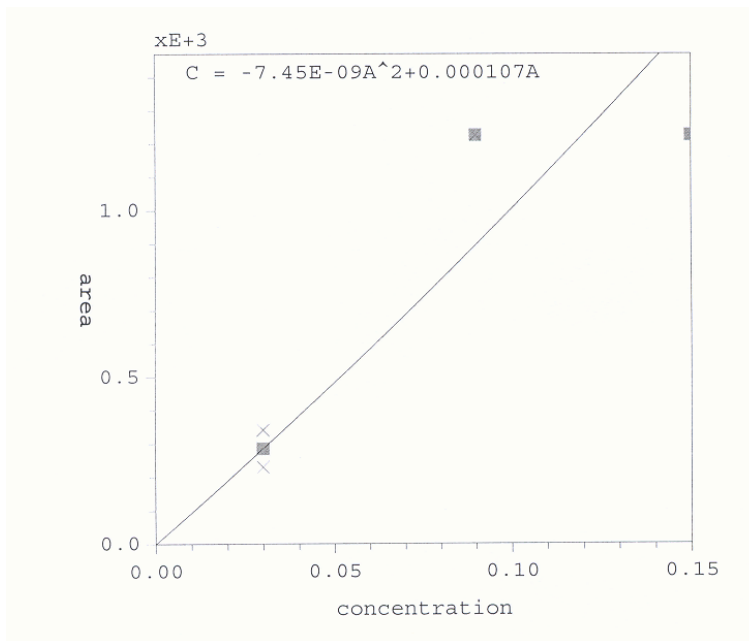
۱۰ میلی لیتر از پساب حاصل از دو روش بالا را برداشته و در قیف جدا کننده به همراه حلال اتیل استات خوب تکان داده، سپس فاز آبی را جدا نموده و فاز حلال را جهت تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) آماده می‌نمائیم.

مشخصات دستگاه HPLC

کروماتوگرافی مایع با کارکرد عالی (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. یکی از روشهای دقیق جهت اندازه گیری ترکیب اولئوروپین استفاده از HPLC می‌باشد. دستگاه مورد استفاده از شرکت Knauer مدل Well Chrom 2000 با پمپ مدل Maxi-star K-1000 و دکتور مدل Spectrophotometer K-2500، که در ۲۷۸ نانومتر تنظیم گردیده و ستون مورد استفاده Erospher 100 C₁₈ به طول ۲۵ سانتیمتر و قطر ۴ میلیمتر و فاز متحرک متانول، آب و اسید استیک (۸۰ : ۱۸ : ۲) با شدت جریان یک میلی لیتر در دقیقه، و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ μ l میکرومیلی لیتر به مدت ۲۰ دقیقه انجام گردید.

رسم منحنی کالیبراسیون برای نمونه استاندارد

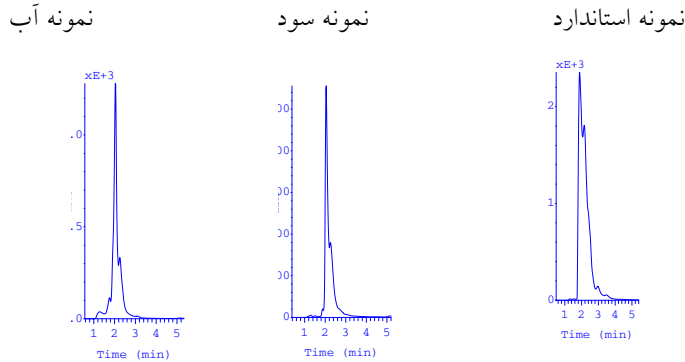
برای بررسی میزان اولئوروپین با تهیه منحنی استاندارد به صورت زیر انجام شد. غلظت‌های متفاوتی از نمونه استاندارد تهیه نموده (سه نمونه با غلظت‌های ۰/۰۳، ۰/۰۹ و ۰/۱۵ میلی گرم در میلی لیتر) آنها را به دستگاه تزریق نموده بعد با داشتن سطح زیر پیک ماده مجهول و انطباق آن با نمودار کالیبراسیون، غلظت ماده مجهول را به دست می‌آوریم.



شکل شماره ۱: منحنی کالیبراسیون

نتایج

در این بررسی میزان ترکیب اولئوروپین در دو نمونه پس آب (آب نمک) mg/ml ۰/۰۰۱۰ درصد و در پس آب (سود) mg/ml ۰/۰۰۱۶ درصد بدست آمدند.



بحث

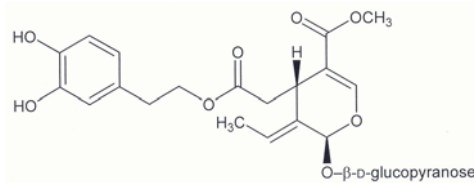
در طی رشد گیاه زیتون دو ترکیب اسید النولیک و دِمَتیل اولئوروپین^۱ که از مشتقات گلوکوزید ترکیب اولئوروپین می‌باشند ذخیره می‌شوند. این ترکیبها همزمان در فصل پاییز در مقدار اولئوروپین در فعالیت استرها افزایش می‌یابد. بنابراین، این آنزیم ممکن است برای تشکیل از دو مشتق اولئوروپین مسئول باشند. اختلاف فصل در سطح ترکیبهای فنلی عموماً در گیاهان و مخصوصاً در میوه‌ها پدیده شناخته شده‌ای هستند (Amiot et al., ۱۹۸۹، و Macheix & Fleuriet, ۱۹۸۶) آنها نتیجه دگرگونی از این ترکیبها هستند (Barz & Koster, ۱۹۸۱). استر ناهمگن از اسید النولیک و ۳، ۴ - دی هیدروکسی فنیل اتانول^۲ است. ساختمان فنلی سکویریدوید^۳ آنرا بخاطر ظرفیت

^۱ - Demethyl oleuropein

^۲ - 3,4-dihydroxyphenylethanol

^۳ - Secoiridoid

قهوه‌ای و مزه تلخ شدید آن از هر دو تکنیک مهم قابل بررسی می‌سازد. این ترکیب در میوه‌های تازه خیلی فراوان است، اما سطح آن در طی رشد کاهش می‌یابد. در میوه زیتون (*Olea europaea L.*)، ترکیب اصلی فنلی اولئوروپین است (Amiot et al., ۱۹۸۹).



معمولاً در دوره رشد میوه زیتون سه مرحله را رسیدگی می‌کنند (Walter et al., ۱۹۷۳)، یک مرحله رشد می‌باشد، که در جریان ذخیره سازی ترکیب اولئوروپین رخ می‌دهد. یک مرحله رشد سبز که همزمان با کاهش سطح کلروفیل و ترکیب اولئوروپین می‌باشد و در آخر یک مرحله رشد سیاه که دارای صفات اختصاصی با ظاهر شدن آنتوسیانین‌ها^۱ و در این مدت سطح ترکیب اولئوروپین همچنان رو به کاهش است. کاهش سطح ترکیب اولئوروپین در طی رشد میوه، برای تمام بررسی‌های کشت معلوم گردیده است (Amiot et al., ۱۹۸۹).

رابطه شیمیایی بین ترکیب‌های اولئوروپین، گلوکوزید اسید النولیک و دِ متیل اولئوروپین و سطح نسبی در طی رشد میوه پیشنهاد می‌دهد که ممکن است رابطه بیوشیمیایی داشته باشد. میوه زیتون ذخیره سازی را فقط با مشتقات گلوکوزیدی از ترکیب اولئوروپین را ظاهر می‌کنند، که به احتمالی کمتر از آگلیکون سمی هستند (Fedeli, ۱۹۷۲).

با توجه به اینکه در ایران مقدار زیادی میوه زیتون را تخ زدایی کرده و برای فروش وارد بازار می‌گردد و پساب آنرا به عنوان ضایعات دور ریخته می‌توان با جمع آوری پساب آن ترکیب اولئوروپین را استخراج و وارد صنعت دارویی در کشور نمود.

¹ - Anthocyanins

منابع

- آمار نامه کشاورزی سال ۸۲-۱۳۸۱. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی سال ۱۳۸۳
- صانعی، ص.، ۱۳۷۸. همیشه لاغر باشید، انتشارات کنکاش.
- Amiot, M.J., Fleuriet, A. and Macheix, J.J., 1989. Accumulation of oleuropein derivatives during Olive maturation. *Phytochemistry*, 28(1): 67-69.
 - Barz, W. and Koster, J., 1981. *The Biochemistry of plants* (Conn, E.E.,ed.). vol.7, p.35. Academic Press, New York.
 - Brenes-Balbuena, M., Garcia-Garcia, P. and Garrido-Fernandez, A., 1992. Phenolic compounds related to the black color formed during the processing of ripe Olives. *J.Agric. Food Chem.*, 40: 1192-1196.
 - Brenes, M., rejano, L., Garcia, P., Sanchez, A.H. and Garrido, A., 1995. Biochemical changes in phenolic compounds during spanish-styl green olive processing. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 2702-2706.
 - Fedeli. E., 1972. Symposium on phenolic Components in olive vegetation waters. Milan, 155.
 - Keys, A., 1995. Mediterranean diet and public health: Personal reflections. *Am. J. Clin. Nutr.*, 1321S-1323S.
 - Macheix, J.J. and Fleuriet, A., 1986. *Bull. Liaison Groupe Polyphenols*. 13: 337.
 - Marsilio, V., Campestre, C. and Lanza, B., 2001. Phenolic compounds change during california-style ripe olive processing. *Food Chem.*, 74: 55-60.
 - Trichopoulou, A. and Lagiou, P., 1997. Healthy traditional Mediterranean diet: An expression of culture, history and lifestyle. *Nutr. Rev.*, 55: 383-389.
 - Walter, W.M., Fleming, H.P. and Etchells, J.L., 1973. *Appl. Microbiol.* 26: 773.

Vol. 21 No. (2), 123-129 (2005)

Extraction and Identification of Oleuropein in Residue Waste Water of Washing Fruits of *Olea europaea* L.

K. Jaimand¹, M. B. Rezaee¹ and A. N. Ashtiany¹

Abstract

Phenolic compounds in olive fruits are important factors to consider. These compounds are partly responsible for auto-oxidation stability and organoleptic characteristics. Moreover, they have pharmacological properties and are natural antioxidants and inhibit gram- positive microorganisms involved in the fermentation of olive fruits. Oleuropein, the main component that produced bitterns in olive, is a heterosidic ester of elenolic acid and 3,4-dihydroxyphenylethanol.

In this study we have collected two samples in summer 2004 from washing exude of fruits *Olea europaea* L., after procedure for the separation of phenolic compounds extracted. Identification and determination of oleuropein compound was done by HPLC. The results showed the quantity of oleuropin in the salt water sample was 0.0010% mg/ml and in NaOH sample was 0.0016% mg/ml.

Key words: *Olea europa*, oleuropein, HPLC, washing exude of fruits.

1- Academic members of Research Institute of Forests and Rangelands
P.O. Box: 13185-116, Tehran- Iran. E-mail: Jaimand@rifr-ac.ir



Islamic Republic of Iran
Ministry of Jihad-e-Agriculture
Agricultural Research and Education Organization
Research Institute of Forests and Rangelands

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants

Vol. 21 No.(2), 2005

Contents

Antimicrobial Effect of <i>Ammi visnaga</i> Essential oil on Mouth Microflora.....	280
<i>Z. Abravesh, A. Majd, M. B. Rezaee and S. Mehrabian</i>	
Influence of Natural and Artificial Freezing Temperature on some Morphological and Physiological Index of Olive Plant	279
<i>A. Solimani, H. Lessani and S. R. Tabaei-Aghaei</i>	
Study of some Ecological Characteristics of <i>Zataria multiflora</i> in Hormozgan Province.....	278
<i>R. Asadpoor and M. A. Soltanipoor</i>	
Effect of Collection Area and Pre-treatments on Germination of <i>Zhumeria majdae</i>. Rech. f. & Wendelbo Seed	277
<i>A. H. Hajebi and M. A. Soltanipoor</i>	
Investigation of Provenance Properties and some Chemical Components of <i>Ferula gumosa</i> Boiss. in Qom Province.....	276
<i>S. M. Adnani, H. Bashari and H. Bagheri</i>	
Effect of Spraying of Nitrogen Fertilizer on <i>Melissa officinalis</i> L. Yield in the Greenhouse Condition	275
<i>B. Abbaszadeh, E. Sharifi Ashourabadi, M. R. Ardakani, M. B. Rezaee and F. Paknejad</i>	
Extraction and Identification of Oleuropein in Residue Waste Water of Washing Fruits of <i>Olea europaea</i> L.	274
<i>K. Jaimand, M. B. Rezaee and A. N. Ashtiany</i>	
Evaluation of Morphological Variation in <i>Rosa damascena</i> Mill. Genotypes from Six Central Provinces of Iran	273
<i>S. R. Tabaei-Aghaei, S. Farhangian, A. A. Jafari and M. B. Rezaee</i>	
Investigation of Parthenolide Production and Antioxidant Defence in Tissue Culture of feverfew (<i>Tanacetum parthenium</i>) under Wounding, Abscisic acid and salicylic acid Treatments.....	272
<i>S. Akef, F. Bernard, H. Shaker and A. Ghasem poor</i>	
Investigation on Essential Oil Content of <i>Melissa officinalis</i> during Growth Period in Malekan and Arasbaran.....	271
<i>Y. Imani</i>	