



## بررسی استفاده از عصاره برگهای زیتون بعنوان منبعی از پلی فنلها برای پایداری اکسیداتیو و فعالیت آنتی اکسیدانی روغنهای نباتی تجاری

هادی مهدویان مهر<sup>۱</sup>، محمد حسین حداد خداپرست<sup>۲</sup>

H\_Mahdavian\_M@yahoo.com

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد

۲- عضو هیئت علمی گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه فردوسی مشهد

### چکیده

ویژگیهای آرومایی و سلامتی بخشی روغن زیتون بخوبی شناخته شده است، همچنین برگهای زیتون مدتهاست که در مکانهای مختلف مصرف دارویی دارند. برگهای زیتون و عصاره آنها OLE اکنون بعنوان مواد ضد پیری، تحریک کننده سیستم ایمنی بدن و حتی آنتی بیوتیک بفروش می رسند. شواهد پزشکی دال بر اثربخشی این مواد در کاهش فشار خون است. خواص آنتی باکتریایی، ضد قارچی و ضد فساد آن در مقیاس آزمایشگاهی به اثبات رسیده است. اخیراً گرایش زیادی در استفاده از عصاره آبی که بطور مستقیم از برگهای تازه زیتون تهیه می شود وجود دارد. مشخص شده که میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی آن تقریباً دو برابر برگ چای و ۴ برابر بیشتر ویتامین C در خود دارند.

**واژگان کلیدی:** روغن زیتون، آنتی اکسیدانها، پلی فنلها، سلامتی بخشی



## مقدمه

روغنهای نباتی مانند روغن آفتابگردان، پالم، کلزا و زیتون نقش مهمی در تغذیه بشر بر عهده دارند. از این روغن‌ها در روغنهای سالاد و روغنهای سرخ کردنی و پخت و پز استفاده می‌شوند. روغنهای نباتی که معمولاً برای سرخ کردن استفاده می‌شوند، غنی از توکوفرولها و تقریباً تهی از ترکیبات فنلی هستند. اکسیداسیون عامل اصلی فساد این چربیهاست و باعث افت تغذیه ای و ایجاد تغییرات نامطلوب در رنگ، طعم و بافت مواد غذایی می‌شود. همچنین علاوه بر مسائل اقتصادی، مصرف این محصولات می‌تواند سلامت مصرف کننده را در معرض خطر قرار دهد. برای جلوگیری از اکسیداسیون معمولاً از آنتی اکسیدانهای سنتزی مثل TBHQ, BHT, BHA و... استفاده می‌شود. این آنتی اکسیدانها فرار و حساس به گرما هستند و برای ثبات و پایداری مواد غذایی نیستند. از طرفی استفاده از آنها سلامتی انسان را تهدید می‌کند و باعث بروز سرطان می‌شود.<sup>(۸)</sup> امروزه تحقیقات زیادی برای یافتن منابع آنتی اکسیدانهای طبیعی استفاده آنها بمنظور کاهش اکسیداسیون روغن‌ها در حال انجام است<sup>(۴)</sup>. بعنوان مثال از ترکیبات آنتی اکسیدان طبیعی که در روغنهای سرخ کردنی استفاده شده اند، می‌توان به موارد ذیل اشاره نمود، عصاره های مرزنگوش در روغن پالم، پودرهای مرزنگوش در روغن پنبه دانه، عصاره های رزماری و مریم گلی در روغن پالم، عصاره اتانلی *saturejae hortensis* در روغن آفتابگردان، عصاره متانلی برگ چای و عصاره یولاف در روغن پنبه دانه، پودر اسفناج در روغن سویا و عصاره سبزیجات برگی (کلم، برگهای گشنیز و اسفناج) در روغن آفتابگردان و بادام زمینی.<sup>(۱۰ و ۸)</sup>

پلی فنلها ترکیبات آنتی اکسیدانی هستند و قادرند رادیکالهای آزاد را جذب نمایند.<sup>(۱۲)</sup> پلی فنلها در محافظت بدن در برابر بیماریها نقش مهمی را ایفا می نمایند. بعنوان مثال در محافظت بافت بدن در برابر استرسهای اکسیداتیو، جلوگیری از اکسیداسیون LDL، سرطان ها مانند پرستات، سینه، پوست و سرطان روده بزرگ نیز مشخص شده که تاثیر گذارند. با توجه به فوایدی که پلی فنلها در سلامتی انسان دارند، تولید روغنهای نباتی غنی از پلی فنلها می‌تواند در افزایش سلامت بشر نیز تاثیر گذار باشد.<sup>(۱۴ و ۷)</sup>

برگهای درخت زیتون *Olea europaea* از خانواده *Oleaceae* هستند که در کشورهای مدیترانه ای مصرف دارویی دارند. برگ زیتون حاوی ترکیبات فنلی، ترپنی و ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدراتها، پروتئین، مواد معدنی و غیره است. برگی زیتون بالاترین فعالیت آنتی اکسیدانی و قدرت گیرندگی رادیکالهای آزاد را در بین بخشهای مختلف درخت زیتون دارند. ترکیبات موجود در برگهای زیتون شامل ترکیبات سکوریدوید (مانند الئوروپین، لیگستروسید، دی متیل الئوروپین و الئوزید) همچنین ترکیبات فلاونوئید مانند آپیجنین، کامپفرول، لوتئین و ترکیبان فنولی شامل اسید کافئیک، تیروزول و هیدروکسی تیروزول می باشند. الئورپین به مقدار زیادی در برگ زیتون و اندکی در روغن زیتون وجود



دارد.<sup>(۱۰)</sup> الئوروپین مهمترین ترکیب فنلی برگ زیتون است. یکی از ترکیبات مهم حاصل از هیدرولیز الئوروپین، هیدروکسی تیروزین است که ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن در آن ۱۰ برابر جای سبز است و یک ماده با ویژگیهای آنتی اکسیدانی و آنتی میکروبی قوی است. این ترکیب به ندرت در طبیعت به صورت آزاد یافت می شود.<sup>(۶)</sup>

### مراحل غنی سازی روغنهای تجاری با عصاره برگهای زیتون

#### تهیه عصاره برگهای زیتون

جداسازی پلی فنلها طبق روش Gariboldi با کمی اصلاحات انجام می شود. بعنوان مثال ابتدا میزان معینی برگ توزین و در ۵ برابر وزن خود در اتانل در اتاق تاریک و بمدت ۳ روز خیسانده می شوند، سپس عصاره حاصل فیلتر شده و حلال تحت خلاء و دمای ۴۰ درجه سانتیگراد تبخیر می شود. مواد باقی مانده را محلول آب-استون (۱:۱) حل کرده و بعد ۴ مرتبه با هگزان، ۴ مرتبه با کلروفرم شستشو داده و ۴ مرتبه دیگر با اتیل استات استخراج را انجام می دهیم. سرانجام عصاره های اتیل استات مخلوط شده و سپس حلال تحت خلاء تبخیر می گردد. باقی مانده حاصل عمدتاً حاوی پلی فنلها است. این پلی فنلها را می توان در متانل در دمای ۴ درجه تا هنگام مصرف نگهداری نمود.<sup>(۳و۱۵)</sup>

از روشهای دیگر استخراج می توان به امواج فراصوت و استخراج توسط حلال فوق بحرانی اشاره کرد.<sup>(۹و۱۰)</sup>

#### افزودن عصاره به روغنهای نباتی تجاری

میزان پلی فنلهای مورد نظر برای افزودن به روغنهای تجاری از طریق تخمین Folin-ciocalteu و عصاره متانلی مرحله قبل محاسبه می شود. میزان عصاره متانلی محاسبه شده را حجم نموده و تحت خلاء حلال آن تبخیر می شود. مواد باقی مانده را در پروپیل گلیکول حل نموده و سپس روغن را در حال همزدن به آن می افزائیم. سپس مخلوط حاصل را به مدت ۲۰ دقیقه در شیکر قرار می دهیم، تا کاملاً یکنواخت شود. سپس دوباره طبق روش ذیل میزان پلی فنلها را در روغن غنی شده اندازه گیری می کنیم.<sup>(۲و۱۵)</sup>

#### اندازه گیری پلی فنلها در روغنهای گیاهی قبل و بعد از غنی سازی

وزن مشخصی از روغنهای تجاری و روغنهای غنی شده توزین و سپس سه مرتبه توسط متانل استخراج می شود. عصاره های حاصل با هم مخلوط شده و متانل آنها تحت خلاء تبخیر می گردد. مواد باقی مانده در استونیتریل حل شده و ۲ مرتبه با هگزان شستشو داده می شوند. استونیتریل تحت خلاء تبخیر شده و مخلوط باقی مانده در متانل دوباره حل می شود. این عصاره برای تخمین میزان پلی فنلها مورد



ارزیابی قرار می گیرد. همچنین شناسایی تک تک پلی فنلها توسط HPLC و GC-MS انجام می گیرد. (۱۵۳)

### ارزیابی پایداری اکسیداتیو و ظرفیت آنتی اکسیدانی

ارزیابی پایداری اکسیداتیو روغنها قبل و بعد از غنی سازی، طبق روش رنسیمت انجام می شود. این روش اغلب برای تخمین پایداری روغنهای خوراکی در دماهای بالا (۱۰۰-۱۲۰ درجه سانتیگراد) استفاده می شود. فعالیت آنتی اکسیدانی نیز توسط ارزیابی توانایی جذب رادیکالهای DPPH\* اندازه گیری می گردد. (۱۵۳)

### مزایای استفاده از عصاره برگهای زیتون

در سال ۲۰۰۷ Salta و همکاران ، چهار روغن نباتی تجاری (آفتابگردان، زیتون، پالم و شورتنینگهای گیاهی ) را با عصاره برگهای زیتون غنی نمودند، آنها با توجه به محدودیت FAO/WHO در مورد حد مجازافزودن آنتی اکسیدانهای سنتزی به روغنها، میزان ۲۰۰ میلی گرم پلی فنل به ازاء هر کیلو گرم روغن را تحت بررسی قرار دادند. مشخص شد که با افزودن عصاره، فعالیت آنتی اکسیدانی تمام نمونه های افزایش می یابد. " فعالیت آنتی اکسیدانی ، توانایی یک روغن در جذب رادیکالهای DPPH\* تعریف می شود و هرچه میزان توکوفرولها، پلی فنلها و کلروفیلها در روغن بیشتر باشد ظرفیت آنتی اکسیدانی آنها نیز بیشتر خواهد بود" از میان روغنهای مورد بررسی، روغن زیتون کارایی بهتری در هنگام غنی سازی از خود نشان داد که این نشاندهنده اینست که روغن زیتون سوبسترای مناسبتری برای آنتی اکسیدانهای طبیعی است. همچنین زمان شروع اکسیداسیون (IT) در تمام نمونه های غنی شده با عصاره افزایش یافت. بیشترین میزان در مورد روغن آفتابگردان و کمترین مربوط به شورتنینگهای گیاهی بود. همچنین طبق مطالعات انجام شده مشخص شده است که پایداری اکسیداتیو در هنگام افزودن عصاره برگ زیتون، بیشتر از افزودن عصاره های مریم گلی، مرزه و گل گاو زبان است. طبق نتایج بدست آمده از آزمایشات، مشخص گردید که وارسته درخت زیتون، فصل برداشت و روش استخراج، بر روی ترکیبات فنلی عصاره برگ زیتون تاثیر گذارند. به هر صورت بدون در نظر گرفتن پارامترهای موثر بر محتوای پلی فنلها در عصاره، پتانسیل استفاده از ضایعات کارخانجات و کارگاههای استخراج روغن زیتون بمنظور استفاده مفید آنها در روغنهای تجاری ، بویژه در کشورهای مدیترانه ای بسیار حائذ اهمیت و مورد توجه خواهد بود. (۱۵۳)

### نتیجه گیری

طبق نتایج بدست آمده در مطالعات پیشین، مشخص شده که عصاره برگهای زیتون منبع مناسبی از پلی فنلها، بخصوص الئورپئین، هیدروکسی تیروزول و کورستین می باشد. این ترکیبات سبب افزایش



پایداری روغن‌ها می‌شوند. همچنین غنی‌سازی روغن‌های سرخ‌کردنی با این ترکیبات توصیه‌گردیده است. این پتانسیل استفاده از ضایعات کارخانجات فرآوری زیتون در محصولات نظیر روغن‌های سرخ‌کردنی گیاهی و غذاهای سرخ‌کردنی و غیره می‌تواند سود سرشاری را برای این صنایع به ارمغان بیاورد، همچنین سبب تولید غذاهای عملگرا و بهبود سلامتی بشر گردند.

### منابع

1. Che Man Y.B. and Jaswir I. (1999). Effects of natural and synthetic antioxidants on changes in refined bleached and deodorized palm olein during deep – fat frying of potato chips, *Journal American Oil Chemistry Society* 76: 331–339.
2. Chioa A., et al. Retention and Distribution of Polyphenols after Pan-Frying of French Fries in Oils Enriched with Olive Leaf Extract. 2007. *Journal of Food Science* 72:( 8) pp 574-584
3. Gariboldi P., Jommi G. and Verotta L. (1986). Secoiridoids from *Olea Europaea*, *Phytochemistry* 25(4): 865–896.
4. Giese J. (1996). Antioxidants. Tools for preventing lipid oxidation, *Food Technology* 50: 73–81.
- 5-Ryan, D and Robards, K. 1998. Phenolic compounds in olives. *Journal of Analyst.* 123: 1-14
6. Guinda, Á. 2006. "Use of solid residue from the olive industry." *GRASAS Y ACEITES* 57(1):107-115.
7. Kris-Etherton P.M., Hecker K.D., Bonanome A., Coval S.M., Binkoski A.E., Hilpert K.F., Griel A.E. and Etherton T.D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *The American Journal of Medicine* 113(9B): 71–88.
8. Lolos M., Oreopoulou V. and Tzia C. (1999). Oxidative stability of potato chips: effect of frying oil type, temperature and antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 79: 1524–1528.
9. Lujan, R., Rodriguez, J. M and Castro, M. D. 2006. "Dynamic ultrasound- assisted. extracton of oleuropein and related biophenols from olive leaves " *Journal Chromatography A* 1108: 76–82.
10. Lujan, R and Castro, M. D. 2006. "Superheated liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. " *Journal of Chromatography A*, 1136: 185–191



11. Simopoulos A. (2001). The Mediteranean Diets: What is so important about the diet of Greece? The scientific evidence. *Journal of Nutrition* 131: 3065S–3073S.
12. Salta F. N., et al. Oxidative Stability of Edible Vegetable Oils Enriched in Polyphenols with Olive Leaf Extract. 2007. *Food Science and Technology International* 13(6):413-421
13. Soler-Rivas C., Espi' n J.C. and Wichers H.J. (2000). Oleuropein and related compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1013–1023.
14. Trichopoulou A. and Lagiou P. (1997). Healthy traditional Mediterranean diet: An expression of culture, history and lifestyle. *Nutrition Reviews* 55: 383–389.
15. Visioli F. Bellosta S. and Galli C. (1998a). Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sciences* 62(6): 541–546.