بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی برگ دو رقم زیتون (میشن و کنسروالیا)

زهرا آقا جانی*[۱]، محمد خبری زاده [۲]

[۱]گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

[۲]گروه شیمی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، ساوه، ایران

Email:Haj_aghajani@yahoo.com

چکیده

مصرف ترکیبات آنتی اکسیدانی مشتق از گیاهان، باعث کاهش شیوع بسیاری از بیماریهای مزمن میشود. هدف از این مطالعه، بررسی خواص آنتی اکسیدانی عصاره های. برگ دو رقم زیتون (میشن و کنسروالیا)است. ابتدا عصاره ها اتری و پنتانی از برگهای دو رقم زیتون تهیه شدو سپس بااستفاده از توان حذف رادیکالهای آزاد به روش ۲ و ۲ دیفنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)میزان اثر آنتی اکسیدانی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که نمونه برگ کنسروالیا درصد عصاره گیری، درصد مهار و خواص آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به نمونه برگ میشن با حلال های یکسان دارد.

مقدمه

آنتی اکسیدان ماده ای است که می‌تواند در غلظت کم با ماده‌ی قابل اکسایش رقابت کند غشاءهای سلولی و ترکیبات مختلف موجود زنده را در مقابل اکسیدان ها حفظ کنند. همه کاهنده‌ها، آنتی اکسیدان نیستند، بلکه آن ترکیب‌هایی که قادر به محافظت از ملکول‌های هدف می‌باشند، به عنوان آنتی اکسیدان در نظر گرفته می‌شوند. تثبیت دوباره تعادل بین مواد پراکسیدان و آنتی اکسیدان به سلول اجازه می دهد تا عمل فیزیولوژیک نرمال خود را دوباره به دست آورد. به عبارت دیگرآنتی اکسیدان ها، ترکیب‌های آلی هستند که قادر به خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن می‌باشند. این ترکیب‌ها می‌توانند یک الکترون به رادیکال‌های آزاد بدهند و از این طریق از اثرات مخرب رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند [۱-۲]. آنتی اکسیدان ها در صنعت نیز کاربرد دارند، آنتی اکسیدان های موجود در صنایع شیمیایی ترکیب‌هایی هستند که فرایند خوداکسایشی یک محصول شیمیایی مانند لاستیک و پلاستیک را آهسته می‌کند فرایند خوداکسایشی بین ماده اولیه و اکسیژن در یک واکنش رادیکالی زنجیری انجام می‌شود. در صنایع لاستیک و پلاستیک، به طور گستردهای از فنول‌ها و آمین‌ها به عنوان آنتی اکسیدان استفاده می‌شود. آنتی اکسیدان های در مواد غذایی نیز وجود دارند، آنتی اکسیدان های مربوط به مواد غذایی، موادی در غذا هستند که به طور موثری اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن را روی

فرآیندهای فیزیولوژیکی بدن انسان کاهش می‌دهند [۳]. از طرفی این آنتی اکسیدان ها می‌توانند در مراحل اولیه، از تشکیل اکسیدان های فعال جلوگیری کنند و نقش پیش گیرنده داشته باشند، کاروتنوئیدها و ترکیب‌های فنولی از مهم‌ترین آنتی اکسیدان های مربوط به مواد غذایی هستند که هر گروه شامل صدها ترکیب می‌باشد.

آنتی اکسیدان ها به چربی‌ها، روغن‌ها و مواد غذایی چرب اضافه می‌شوند تا از فساد آن ها جلوگیری شود.

آزمایش‌های بالینی و مطالعه‌های همه‌گیر، وجود ارتباطی بین میزان مصرف میوه‌ها و سبزی‌ها و وقوع بیماری‌هایی مانند بیماری‌های قلبی- عروقی و سرطان را اثبات کرده اند. فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد سرطانی میوه‌ها و سبزی‌ها به دلیل اثرات سینرژیستی مواد فیتوشیمیایی موجود در این ترکیب‌ها می‌باشد [۴].

جنس زیتون از تیره زیتون (Oleaceae) با گونه‌ها و واریته های متعدد به صورت درخت و درختچه های خودرو یا اهلی شده، طبیعی یا اصلاح شده، در مناطق وسیعی از دو نیم کره تحت شرایط اقلیمی مدیترانه ای در آفریقا، آسیا، اروپا و اقیانوسیه پراکنده شده است. منشا درخت زیتون منطقه مدیترانه بوده است .در جنوب ایران نیز برخی منابع آن را درجنگل‌های بین اسفندقه وسیرجان ودر ایرانشهر بصورت درختچه با تنه‌ای درهم پیچیده وشاخه‌دار نام برده‌اند [۵و۶].

از نظر طب سنتی زیتون دارای طبیعت گرم و قابض است و میوه نارس زیتون سرد و خشک است و روغن و برگ گرم و خشک هستند. در طب سنتی زیتون به عنوان کاهش دهنده چربی خون ، ملین تلطیف کننده غشاهای مخاطی دستگاه گوارش و محرک ترشح صفرا به کار می رود . جوشانده برگ ها و پوست داخلی درخت زیتون تب بر و برگهای زیتون ضد عفونی کننده و آرام بخش است [۷،۸] .

تمام پیکره‌ی رویشی و زایشی زیتون دارای مواد موثره است. پژوهش ها نشان دهنده آن است که عصاره برگ این گیاه دارای خواص ضد باکتریایی، ضد التهابی و آنتی اکسیدانی است[۹]. همچنین شواهدی وجود دارد که این عصاره می تواند فشار خون بالا را کاهش دهد [۱۰]. برگ زیتون کاهش دهنده قند خون [۱۱]،، ضد اسپاسم [۱۲]،، گشاد کننده عروق خونی، کاهنده کلسترول بد و برای افراد دیابتی بسیار مناسب است [۱۳].درگزارشی از کشور تونس اثر ضد باکتری و فعالیت های ضد قارچی از روغن فرار حاصل از برگهای تازه و خشک سه واریته زیتون به روش تقطیر با آب (Neb jemel ، Chemchali ، Chemlali) در سال ۲۰۱۲ وجود دارد که نشان می دهد اجزای اصلی این روغنهای اسانسی عبارتند از: (E) -3-hexenol، 3-ethenylpyridine، (E) -bdamascenone و فنیل اتیل الکل اما درصد آنها با توجه به واریته زیتون و روش اسانس گیری متغییر بود [۱۴].در همین مقاله اثر آنتی اکسیدانی اجزای فرار مورد بررسی قرار گرفته که نشان می دهد خواص آنتی اکسیدانی برگ تازه بیشتر از برگ خشک است و نیز نتایج پژوهش دیگری برگ واریته Chemlali نشان می دهد که اجزای اصلی روغن اسانسی آن عبارتند از آلفا-پینن ، ۲،۶- دی متیل اکتان و ۲-متوکسی-۳-, ایزوپروپیل پیرازین همچنین تاثیرات دارویی اسانس این گیاه در بر طرف نمودن التهاب مشخص شد [۱۵] . اثر آنتی اکسیدانی اسانس واریته بررسی شده در این

مقاله بسیار قوی تر نسبت به BHT می باشد. در گزارش دیگری برگ سه واریته زیتون از کشور ایتالیا مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که عصاره متانولی/آب بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی را داراست. علت اینکه مطالعات در کشور تونس برروی برگ زیتون انجام می شود این است که در برگ زیتون در طب سنتی تونس برای درمان بسیاری از انواع التهابات و عفونت های باکتریایی مانند زردی، عفونت گوش میانی، التهاب لثه و سرفه استفاده می شود. علی رغم توجه به اندام های مختلف این گیاه بررسی ها در متون علمی نشان می دهد که بروی برگ زیتون مطالعات زیادی صورت نگرفته است . با توجه به نزدیکی گیاه شنا سی این دو واریته ، در این تحقیق تاثیر شرایط مختلف استخراج عصاره برگ این دو گیاه بر خواص آنتی اکسیدانی آن ها بررسی می شود.

مواد و روش ها

الف: تهیه عصاره

در این پژوهش عصاره گیری به روش خیساندن از برگ دو رقم (Mission) و (Conservolea) از گیاه *Olea europaea* L. انجام شد، هر دو رقم مورد نظر را ابتدا به صورت گرد درآورده و مقدار ۷۰ گرم گیاه و ۳۵۰ میلی لیتر حلال (نرمال پنتان و دی اتیل اتر بطور جداگانه) را در یک ارلن ۱۰۰۰ میلی لیتری ریخته و به مدت ۸ روز نگهداری و سپس صاف شد. در این مدت هر دو روز یک مرتبه با دستگاه روتاری عمل تغلیظ عصاره انجام شد و دوباره حلال جدا شده از عصاره تغلیظ شده توسط روتاری به نمونه اضافه شد. در کل برای هر رقم با حلال های مختلف ۴ بار عمل روتاری صورت گرفت. و در نهایت عصاره برای انجام آزمون های نهایی جمع آوری شد.

ب: سنجش میزان اثر آنتی اکسیدانی

امروزه پژوهشگران روش هایی را به کار می گیرند که به کمک آنها ظرفیت کل آنتی اکسیدانی را در یک نمونه مورد ارزیابی قرار می دهند .یکی از مهمترین این روش ها، که قدرت مواد را در دفع رادیکال های آزاد و یا ظرفیت آنتی اکسیدانی تعیین می کنند روش هایی بر مبنای انتقال الکترون است و از مهمترین آنها حذف رادیکالهای آزاد با استفاده از روش DPPH (۱، ۱-دای فنیل ۲- پیکریل هیدرازیل) است.

DPPH ، یک رادیکال آزاد نسبتاً پایدار است که می تواند یک الکترون و یا رادیکال هیدروژن قبول کند و به یک مولکول خنثی و پایدار تبدیل شود. این ماده به دلیل دارا بودن الکترون منفرد دارای جذب قوی در طول موج ۵۱۷ نانومتر می باشد که در این مرحله، محلول متانولی آن بنفش رنگ است. در حضور آنتی اکسیدان این تک الکترون میتواند به صورت جفت الکترون در بیاید. نسبت به تعداد الکترون دریافتی، جذب به صورت وابسته به غلظت کاهش می یابد. رنگ محلول در این

مرحله به زرد یا بی رنگ تغییر می کند. با استفاده از این تغییر جذب می توان توانایی مولکول های مختلف را به عنوان مهار کننده رادیکال آزاد سنجید، در واقع میزان تغییر در جذب هر نمونه به قدرت و توانایی جاذب رادیکال بستگی دارد.

عمل احیاء شدن و کاهش جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر، در دمای اتاق و پس از گذشت ۵ دقیقه از شروع واکنش صورت می گیرد. مزیت معرف DPPH، این است که در زمان کوتاهی می‌توان تعداد زیادی نمونه را اندازه‌گیری نمود و نیز از حساسیت کافی برخوردار است.

سنجش DPPH یک تکنیک ساده است اما نقاط ضعفی که دارد کاربرد آن را محدود می کند.گزارشات نشان می دهد که واکنش DPPH با اوژنول (ارتو- متوکسی فنول) برگشت پذیر است، بنابراین برای نمونه‌های حاوی اوژنول و یا دیگر فنول‌ها با ساختاری مشابه با اوژنول ظرفیت آنتی اکسیدانی بسیار پایین تر از آنچه هست نشان می‌دهد.

BHT: این ترکیب پودری سفید رنگ دارای فرمول ملکولی $C_{15}H_{24}O$ می‌باشد. از نام‌های دیگر آن، ۳ و ۵- دی ترشیو- ۴- هیدروکسی تولوئن، ۲ و ۶- دی ترشیو بوتیل- پاراکرسل و متیل دی ترشیو بوتیل فنول می‌باشد . از این ترکیب به عنوان آنتی اکسیدان سنتزی در این روش استفاده می شود.[۱۶-۱۸].

به منظور بررسی اثرات آنتی اکسیدانی عصاره های برگ گیاه زیتون ، آزمون مهار رادیکال آزاد DPPH انجام شد و نتایج حاصله مورد بررسی قرارگرفت. محلول روغن با غلظت معین ساخته شد، سپس محلول عصاره با حجم برابر از محلول DPPH با غلظت mg/ml ۱ مخلوط و پس از خواندن جذب محلولها توسط دستگاه UV-Vis در طول موج ۵۱۷ نانومتر، درصد مهار رادیکال DPPH (I%) ، محاسبه گردید.

I% مطابق این رابطه محاسبه می شود:

$$I\% = [Ab-AS/Ab] \times 100$$

جذب شاهد : Ab , جذب نمونه: As

بحث و نتیجه گیری:

۱- بررسی نتایج حاصل از استخراج عصاره

دراین پژوهش استخراج عصاره ی برگ های گیاه برای دو رقم(Mission) و(Conservolea) از گیاه (*Olea europaea*.L)با حلال های دی اتیل اتر و نرمال پنتان، نتایج و بازده عصاره گیری برای هر گونه بطور مجزا در جداول زیر نشان داده شده است.

جدول (۱) بازده حاصل از استخراج عصاره های رقم *Mission* به روش خیساندن

عصاره نوع	نوع روش	میزان نمونه گیاهی (گرم)	رنگ عصاره	میزان حلال مصرفی (میلی لیتر)	زمان روز	بازده عصاره%
دی اتیل اتر	خیساندن	۷۰	سبز تیره	۳۵۰	۸	۳۳/۶
نرمال پنتان	خیساندن	۷۰	روشن سبز	۳۵۰	۸	۱۱/۹

جدول (۲) بازده حاصل از استخراج عصاره های رقم *Conservalia* به روش خیساندن

نوع عصاره	نوع روش	میزان نمونه گیاهی (گرم)	رنگ عصاره	میزان حلال مصرفی (میلی لیتر)	زمان روز	بازده عصاره%
دی اتیل اتر	خیساندن	۷۰	سبز تیره	۳۵۰	۸	۴۰/۴
نرمال پنتان	خیساندن	۷۰	روشن سبز	۳۵۰	۸	۱۶/۱

۲- مقایسه بین IC50 عصاره ها و BHT استاندارد

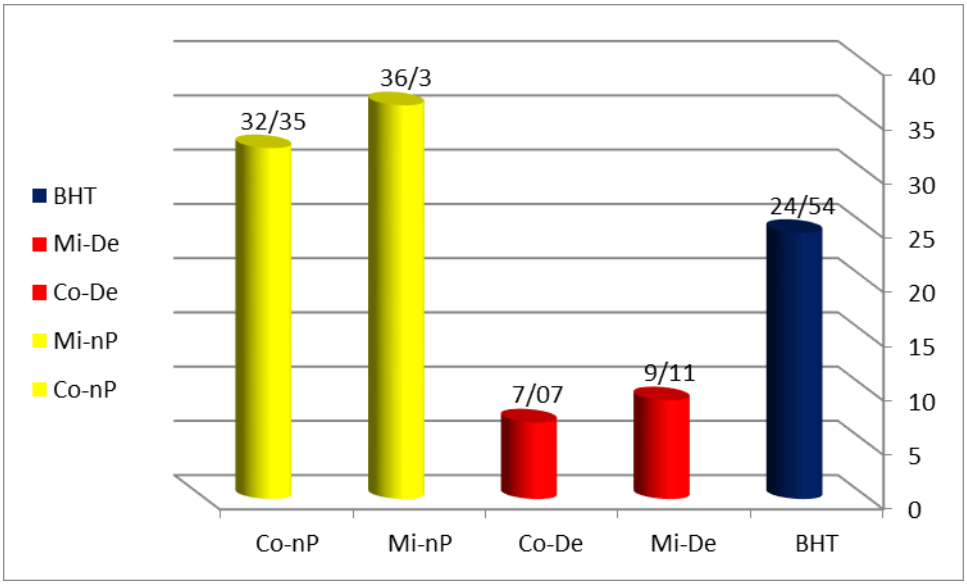
در نمودار زیر مقایسه ای بین IC50 عصاره ها و BHT استاندارد صورت گرفته است. هر چه میزان IC50 کمتر باشد به این معنی می باشد که میزان کمتری از ترکیب مورد نظر برای از بین بردن نیمی از رادیکال های آزاد نیاز می باشد، پس اثر آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به ترکیب های دیگر دارد.

رقم میشن با حلال دی اتیل اتر = Mi-De

رقم کنسروالیا با حلال دی اتیل اتری= Co-De

رقم میشن با حلال نرمال پنتانی = Mi-nP

رقم کنسروالیا با حلال نرمال پنتانی = Co-nP



در این پژوهش پس از ارزیابی اثر آنتی اکسیدانی عصاره ها می توان به نتایج زیر رسید:

۱- استفاده از حلال های متفاوت در میزان بازده عصاره گیری از نمونه ها تأثیر گذار است، این میزان اثرگذاری می تواند با میزان قطبیت حلال ها رابطه مستقیم داشته باشد. به عبارت دیگر می توان گفت با افزایش میزان قطبیت حلال ها درصد بازده عصاره گیری نمونه ها افزایش پیدا می کند.

۲- استفاده از حلال های متفاوت نیز در میزان جذب خوانده شده و در نتیجه در میزان اثر آنتی اکسیدانی عصاره ها نیز تأثیرگذار است. این میزان را نیز می توان به میزان قطبیت حلال ها ربط داد، که با افزایش قطبیت حلال خواص آنتی اکسیدانی عصاره ها نیز افزایش می یابد.

۳- در مقایسه درصد عصاره گیری، درصد مهار و خواص آنتی اکسیدانی عصاره های دو نمونه می توان به این نتیجه رسید که، نمونه برگ کنسروالیا درصد عصاره گیری، درصد مهار و خواص آنتی اکسیدانی بالاتری نسبت به نمونه برگ میشن با حلال های یکسان دارد.

نتایج بدست آمده منحصرا" مربوط به برداشت از آزمایشات انجام شده در این پژوهش می باشد. شایان ذکر است، شرایط متفاوتی از لحاظ آب و هوا، میزان نور خورشید، نوع خاک و کود و همچنین فصل و مکان جمع آوری می تواند در خاصیت آنتی اکسیدانی این گیاه تأثیرگذار باشد.

تقدیر و تشکر:

نویسندگان مقاله از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم تشکر می‌نمایند.

منابع:

[1]. Rice Evans C.A., Burdon R.M., Free radical damage and its control, Amsterdam Elseri, 1994, 46-49, 113.

[2]. Huang, D., Ou, B. and Prior, R.L. 2005, The Chemistry behind Antioxidant capacity Assays. J.Agric. Food. Chem. 53, 1841-1856.

[3]. Tepe, B., et al., 2005, Antimicrobial and Antioxidant activities of the essential oil and various extracts of salvia tomentosa Miller (Lamiaceae), Food chemistry, 90, 333- 340.

[4]. Yanhua, Lu., et al., 2004, Antioxidant Activity of Flavonoid- Rich Extract of Hypericum perforatum L. in vitro, Food chem, 52, 5032- 5039

۵. میرزا، مهدی، احمدی، لطیفه، ، *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*،(۱۳۷۹)۱۲۷.

۶. زارع زاده، عباس، خلدبرین، بهمن، مرادشاهی، علی، باباخانلو، پرویز، رجائی، هما، ، *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران* **5** ,(۱۳۷۹) ۶۳.

۷. علیرضا قدسولی , لیلا نجفیان*اولین همایش تخصصی روغن زیتون* ,۲۲۲۳ -۲۲۲۱.

۸. بتولی، حسین، *اولین همایش بین المللی طب سنتی و مفردات پزشکی* **(۱۳۷۹)** .

[9]. Bruneton IJ, *plantes me´dicinales*.(1993) 475–492.

[10] Hellemont JV. *Association Pharmaceutique Belge*, (1986) 268–270.

[11] Zarzuelo A, Duarte J, Jimenez J. *Planta Med*, **57** (1991)417–419

[12] Hansen K, Adsersen A, Christensen BS, Brooegger S, Rosendal JS, Nyman U, Wagner Smitt U. *Phytomedicine*, **2**(1996) 319–332.

[13] Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez MJ, Utrilla MP, Jimenez J,. *Planta Med*, **58** (1992) 513–515.

[14] J Agric .Food Chem. 26(2003)1994-9.

[15] Zohra Marzouk , Belsem Marzouk , Ibtissem Bouftira , Journal of Food, 2 (2010) 204-208.

[16]. Harish R., Shivanandappa T., Antioxidant activity and hepatoprotective poptential of Phyllanthus niruri, Food Chemistry, 2006, 95, 180-185.

17. Tepe B., Sokmen M., Sokmen A., Daferera D., Polissiou M., Antimicrobial and antioxidative activity of the essential oil and various extracts of Cyclotrichium origanifolium (Labill.) Manden. & Scheng., J. Food. Eng., 2005, 69, 335–342.

18. Tepe B., Sokmen M., Akpulat H. A., Daferera D., Polissiou M., Sokmen A., Antioxidative activity of the essential oils of Thymus sipyleus subsp.sipyleus var.sipyleus and Thymus sipyleus subsp.sipyleus var.rosulans, J. Food Eng.,2005, 66, 447–454.

The antioxidant activity of two varieties of olive leaves (Mission and Conservalia)

Zahra Aghajani [1*], Mohammad Khabarizadeh[2]

[1]Department of Chemistry, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran
[2]Department of Chemistry, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
Email:Haj_aghajani@yahoo.com

Consumption of antioxidant compounds derived from plants, reduces the incidence of many chronic diseases. The aim of this study was to evaluate the antioxidant properties of extracts of leaves of two varieties of olive (Mission and Conservalia). The ether and pentane extracts prepared from leaves of olive varieties and then using 2, 2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) the power of antioxidant effects was measured. The results showed that Conservalia leaf extract has more yield, higher inhibition percent and more antioxidant properties.