

استخراج و مقایسه میزان اولئوروپین از برگ و میوه گیاه زیتون در سه استان گیلان، تهران و فارس

*کامکار جایمند^۱، محمدباقر رضایی^۱، اکبر نجفی آشتیانی^۲، مصطفی گلی پور^۲

۱. عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ایران

۲. کارشناس بخش تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات فرعی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور

چکیده

ترکیب‌های فنلی در میوه زیتون از عوامل مهم ارزیابی کیفیت روغن زیتون تصفیه نشده است. اولئوروپین به عنوان یک ترکیب مهم دارویی گیاه زیتون دارای اثر آنتی اکسیدانی و ضدویروسی است. در این تحقیق به منظور بررسی میزان ترکیب اولئوروپین، برگ و میوه گیاه زیتون گونه (*Olea europaea L.*) از سه استان گیلان، تهران و فارس جمع آوری، نسبت به استخراج اولئوروپین با متانول و تعیین میزان آن توسط دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اقدام گردید. میزان ترکیب اولئوروپین در نمونه برگ سه استان گیلان، تهران و فارس به ترتیب با ۳۹۲۱۷، ۳۶۶۵ و ۳۱۳۱۱ ppm در برگ زیتون (بهمن‌ماه) و در نمونه‌های میوه به ترتیب ۳۵۳۲۸، ۲۹۷۴۰ و ۲۱۵۶۳ ppm (تیرماه) محاسبه گردید. این مقادیر نشان دهنده تغییر در میزان این ترکیب در نمونه‌ها می‌باشد که به ترتیب، نمونه گیلان از بیشترین میزان اولئوروپین سپس تهران و در نهایت فارس از کمترین میزان برخوردار است.

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

مقدمه

می‌کنند)، سطح زیرکشت باغ‌های دیم بارور ۶۴۷ هکتار و دیم غیربارور ۳۷۶۲ هکتار که در مجموع سطح زیر کشت باغ‌های زیتون کشور معادل ۶۸۱۹۷ هکتار می‌باشد. میزان تولید در باغ‌های آبی ۴۵۱۳۵ تن و باغ‌های دیم ۲۸۵ تن می‌باشد. در حال حاضر وزارت جهاد کشاورزی در ۲۴ استان کشور مبادرت به اصلاح باغ‌های زیتون نموده است، 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 (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۸۱-۸۲).

جنس زیتون (*Olea*) متعلق به تیره (Oleaceae) دارای ۳۵ گونه است. معروفترین گونه آن زیتون معمولی یا زیتون خوارکی با نام علمی *Olea europaea L.* است که در اقصی نقاط دنیا کشت می‌شود. زیتون از جمله درختان همیشه سبز و مقاوم است که بدون دخالت انسان بار داده و سالها مورد استفاده بشر قرار گرفته است. سطح زیر کشت باغ‌های آبی بارور ۱۴۸۴۴ هکتار و آبی غیر بارور ۴۸۹۴۴ هکتار (باغ‌های غیر بارور حداقل طی ۵ سال قابلیت باروری پیدا

محققین آن را یک مکمل طبیعی، دارای فواید دارویی مهم، از جمله در بالا بردن انرژی بیماران و کمک به بهبود زونا، تبخال و دیگر شرایط ویروسی مانند آنفلوآنزا، سرماخوردگی، عفونت قارچی، کوفتگی مزمن و ضد آرژی می‌شناسند.

البته این ترکیب در شرایط آزمایشگاهی شدیداً فعال است، ولی در شرایط درون بدنی غیرموفق بوده است. سپس در سال ۱۹۹۰، شرکتها مراحل استخراج از برگ زیتون را شروع کردند. در سال ۱۹۹۵، اثرات بالینی این ترکیب مورد بررسی قرار گرفت و به عنوان یک مکمل غذایی مطرح شد (Harborne, 1980).

طبق بررسی‌های آزمایشگاهی، ترکیب Calcium elenolate (که از ترکیب اولئوروپین مشتق شده) بر ویروس‌ها موثر و آنها را می‌کشد. همچنین اعتقاد بر این است که برای خشی کردن آنزیم پروتاز مفید است. این آنزیم‌ها برای ویروس‌هایی مثل HIV و برای RNA یک سلول سالم ضروری است (Huang et al., 2003).

محققان اروپایی معتقدند که اولئوروپین باکتری‌ها را غیرفعال کرده و برای کاهش LDL (کلسترول بد) مفید است. تحقیقاتی دیگری در فرانسه مشخص کرده که استخراج این ماده از برگ زیتون شدیداً اثر ضد اکسیداسیون را نشان داده است (Coni et al., 2000).

تحقیقاتی دیگر نشان می‌دهد که در زمان رسیدن میوه، کاهش ترکیب‌های فنلی موجود در میوه زیتون را به همراه دارد و میوه هرچه رسیده‌تر باشد ترکیب‌های فنلی نیز کاهش می‌یابد. از جمله این ترکیب‌های فنلی، اولئوروپین است که به مقدار زیادی در برگ (۶۰ الی ۹۰ میلی‌گرم در ماده خشک) وجود دارد. این ترکیب یک استر‌گلوکوزیدی از الثولئیک اسید (Hydroxytyrosol) با هیدروکسی تیروزول (Elenolic acid) (Aruoma et al., 1988) باشد که دارای فعالیت آنتی اکسیدانتی اسید است (Amiot et al., 1986).

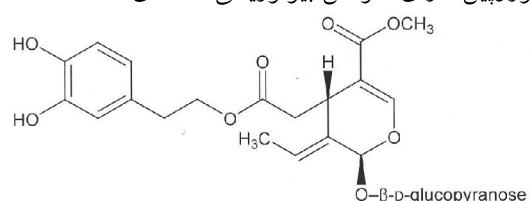
دی متیل الثولئیک اسید از مشتق‌ات فنلی است که در میوه رسیده و خمیر زیتون یافت می‌شود که بر اثر هیدرولیز اسیدی و قلیایی، می‌توان تلخی فنلی را در میوه زیتون تقلیل داد.

از تاثیرات دارویی و اثر بخشی میوه و برگ‌های گیاه زیتون می‌توان به پایین آوردن قند خون اشاره کرد. عصاره آبی رنگ زیتون که به علت وجود نوعی از ترکیب‌های کولین است که باعث پایین آوردن فشار خون می‌شود. علاوه بر این حاوی یک لاکتون غیر اشبع و النولید (Elenolide) و الثوروپینک اسید (Oleuropeic acid) است. در برگ این گیاه مواد قندی، تانن، موم، اسید گالیک و مانیت نیز شناسایی شده است (صانعی، ۱۳۷۸).

ترکیب‌های فنلی در میوه زیتون از عوامل مهم ارزیابی کیفیت روغن زیتون تصفیه نشده است (Perrin, 1992; Montedoro, 1972; Vazquez et al., 1975 تحت تاثیر قرار دادن اندام‌های گیاهی (Vazquez, 1978) هستند. علاوه بر این دارای خصوصیات داروشناسی و ضدآکسید کننده‌های طبیعی هستند (Le Tutour and Guedon, 1992). میوه زیتون وقتی در مرحله رسیدگی کامل باشد، ترکیب اولئوروپین آن به سرعت رو به کاهش می‌گذارد (Amiot et al., 1986). ترکیب اولئوروپین دارای خواص بیولوژیکی، خواص ضدآکسید کننده‌گی و قابلیت تخلیص کردن رایکال آزاد می‌باشد (Visioli et al., 1998).

وجود ترکیب‌های ضدآکسید کننده در روغن زیتون تصفیه نشده و زیتون خام موجب افزایش مقاومت لیپوپروتئین که با دانسیته کم، نسبت به اکسید کننده‌گی می‌شود (Aruoma et al., 1998) (Oleuropeine).

ترکیب اولئوروپین با فرمول مولکولی $C_{25}H_{32}O_{13}$ و وزن مولکولی ۵۴۰ دارای خواص بیولوژیک، خواص آنتی اکسیدانی بوده و قابلیت مهار کردن رایکال آزاد را دارا می‌باشد (Visioli et al., 1998). وجود ترکیب‌های آنتی اکسیدان در روغن زیتون تصفیه نشده و زیتون خام موجب افزایش مقاومت لیپوپروتئین با دانسیته کم، نسبت به اکسید شدن می‌شود (Aruoma et al., 1988). ترکیب اولئوروپین دارای خواص بیولوژیکی متعددی است.



شکل ۲: ساختمان ترکیب اولئوروپین

برگ و میوه زیتون گونه *Olea europa L.* در اواسط هر ماه در سال ۱۳۸۴ از ایستگاههای تحقیقاتی در استان گیلان (لوشان)، تهران (موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع) و استان فارس (شیراز) جمع آوری گردید. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، خشک کردن میوه و برگ در دمای محیط انجام گرفت، میوه را توسط چاقو از هسته جدا نموده سپس ۱ گرم از میوه و برگ هر نمونه را با آسیاب پودر و با ۳۰ میلی لیتر حلال مтанول به مدت نیم ساعت در حمام آب گرم (۵۰°C) حرارت داده شد. سپس محلول صاف شده را به حجم ۳۰ میلی لیتر رسانده تا نمونه جهت تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) آماده شود.

شرایط دستگاهی HPLC

کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) تکنیک مناسبی برای جداسازی و اندازه‌گیری محصولات طبیعی، مواد دارویی و بیوشیمیایی می‌باشد. یکی از روشهای دقیق جهت اندازه‌گیری ترکیب اولئوروپین استفاده از HPLC است. دستگاه مورد استفاده ساخت شرکت Knauer مدل Maxi-star K-1000 و Well Chrom 2000 دارای پمپ مدل ۲۷۸ spectrophotometer K-2500 بود که در نانومتر تنظیم گردید. ستون مورد استفاده *C₁₈* Erospher 100 به طول ۲۵ سانتیمتر و قطر ۴ میلیمتر بود. به عنوان فاز متحرک از متانول، آب و اسید استیک (۲:۱۸:۸۰) با شدت جریان یک میلی لیتر در دقیقه استفاده شد. مقدار نمونه تزریق شده ۷۰ µl بود و مدت زمان انجام آزمایش ۲۰ دقیقه به طول انجامید.

رسم منحنی کالیبراسیون برای نمونه استاندارد برای اندازه‌گیری میزان اولئوروپین با تهیه منحنی استاندارد به صورت زیر انجام شد. غلظت‌های متفاوتی از نمونه استاندارد (شش نمونه با غلظت‌های ۴۰۰۰، ۶۰۰، ۹۰۰، ۳۰۰ و ۸۰۰۰ ppm) تهیه و به دستگاه تزریق شد. بعد با داشتن مساحت سطح زیر طیف ماده مجھول و انطباق آن با نمودار کالیبراسیون غلظت ماده مجھول به دست آمد (شکل ۱).

همزمان با پیشرفت رسیدن میوه، به سرعت و شدت فرآیند تخریبی ترکیب‌های فنلی و پکتیکی افزوده و این امر در حفظ صفات ترکیب روغن زیتون سهم دارد. اگر تخریب با کندی انجام شود، شدت تلخی آن حفظ می‌شود. این مسئله روغن زیتون را از دسترس کمپلکس‌های آنزیمی سلول در امان می‌دارد و از اینکه روغن شروع به ترش شدن کند و طعم آن برگردد، جلوگیری می‌کند (Amiot et al., 1986).

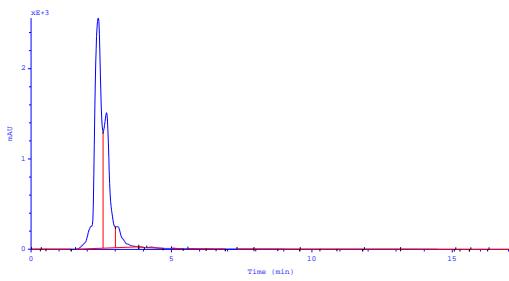
ترکیب‌های فنلی از فساد روغن زیتون جلوگیری نموده و طعم مطلوب در روغن ایجاد می‌کند. میزان ترکیب‌های فنلی (الکل فنلیک اسید و غیره) در روغن زیتون ۵۰ الى ۲۰۰ ppm خواهد بود. که میزان آن بستگی به روش استخراج روغن زیتون دارد و می‌تواند بین ۴۰ الى ۵۰ درصد بر حسب روش استخراج روغن پرس سرد (هیدرولیک) غیر مداوم و مداوم کاهش یابد (Coni et al., 2000).

مهمنترین ترکیب‌های اورتو - دی فنلی دیگر روغن زیتون شامل: اولئوروپین، اسید کافنیک، اسید وانیلیک، اسید اکوماریک، اسید سینپیک، پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید است که غلظت آنها به طور قابل توجهی در میوه در زمان‌های مختلف رسیدن میوه و یا بسته به نوع واریته (سبز یا سیاه کنسروی یا روغنی) تغییر می‌کند (Amiot et al., 1986).

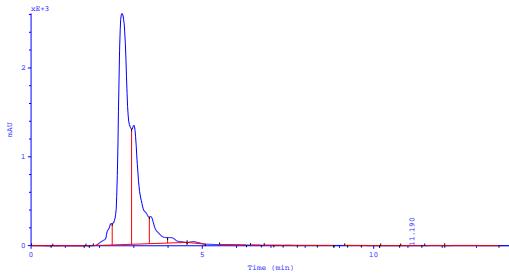
معمولًا در طول رشد میوه زیتون، سه مرحله تا زمان رسیدگی کامل وجود دارد: مرحله اول، رشد ذخیره‌سازی ترکیب اولئوروپین رخ می‌دهد. مرحله دوم، رشد سبز گیاه همزمان با کاهش سطح کلروفیل و ترکیب اولئوروپین و در مرحله نهایی سیاه شدن میوه، ترکیب آنتوسیانیدین‌ها افزایش و در ادامه ترکیب اولئوروپین رو به کاهش می‌گذارد (Amiot et al., 1986). لذا در این تحقیق هدف اندازه‌گیری میزان ترکیب اولئوروپین در برگ و میوه زیتون در سه منطقه شمال، مرکز (تهران) و جنوب (شیراز) با سه منطقه مختلف آب و هوایی می‌باشد.

مواد و روشهای

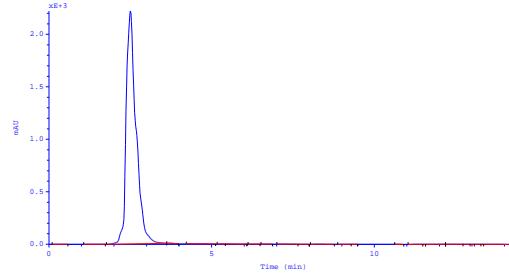
روش استخراج ترکیب اولئوروپین از میوه و برگ



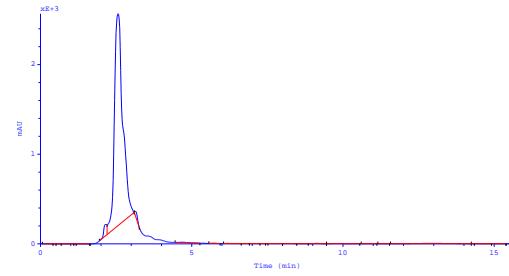
شکل ۴: طیف برگ زیتون از استان گیلان



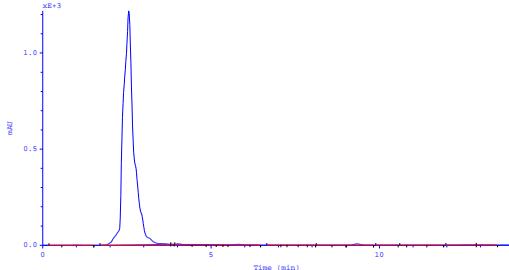
شکل ۵: طیف میوه زیتون از استان تهران



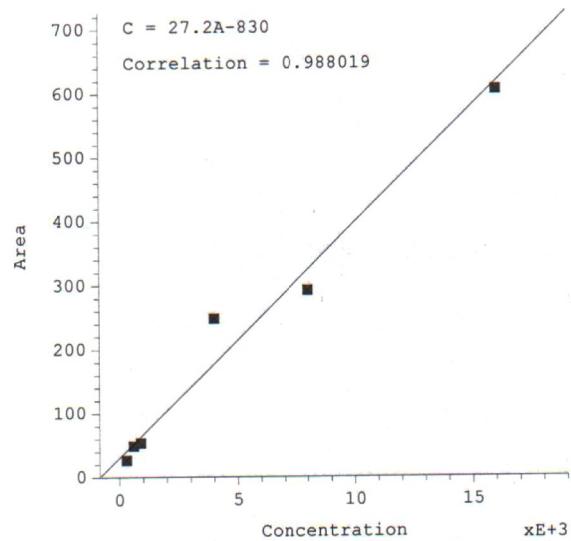
شکل ۶: طیف برگ زیتون از استان تهران



شکل ۷: طیف میوه زیتون از استان فارس

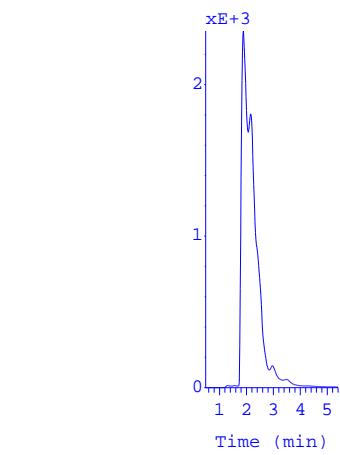


شکل ۸: طیف برگ زیتون از استان فارس

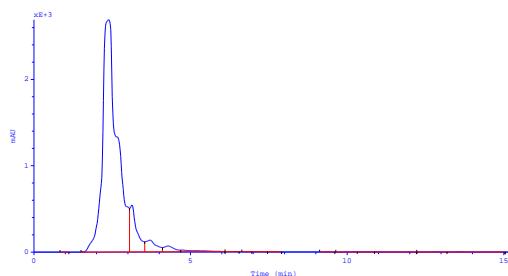


شکل ۱: منحنی استاندارد کالیبراسیون ترکیب اولئوروپین

در این بررسی، میزان ترکیب اولئوروپین به تفکیک در برگ و میوه نمونه‌های زیتون گونه *Olea europaea L.* در جداول ۱ و ۲ مشاهده می‌شود، نمونه‌ها در ۳۰ میلی‌لیتر حلال رقیق شده و میزان اولئوروپین در نمونه‌های برگ (بر حسب ppm) به صورت زیر محاسبه (جدول ۱) گردید.



شکل ۲: نمونه استاندارد



شکل ۳: طیف میوه زیتون از استان گیلان

نتایج

۲۹۷۴۰ و ۲۱۵۶۳ ppm در تیرماه محاسبه گردید. این مقادیر نشان دهنده تغییر در میزان این ترکیب در نمونه‌ها می‌باشد که به ترتیب، نمونه گیلان بیشترین میزان سپس تهران و در نهایت فارس کمترین میزان را نشان داده است.

مطابق جداول ۱ و ۲، در این بررسی میزان ترکیب اولئوروپین در نمونه برگ سه استان گیلان، تهران و فارس به ترتیب با ۳۱۳۱۱، ۳۳۶۶۵ و ۳۹۲۱۷ ppm در برگ زیتون در بهمن ماه و در نمونه‌های میوه گیاه زیتون به ترتیب ۳۵۳۲۸

جدول ۱: میزان ترکیب اولئوروپین در برگ زیتون *Olea europaea* L. در سال ۱۳۸۴

ماه‌های سال	نمونه استان گیلان	نمونه استان تهران	نمونه استان فارس
.	ppm	ppm	ppm
۱ فروردین	۳۱۶۳۴	۳۲۷۸۲	۲۴۸۹۲
۲ اردیبهشت	۲۹۷۴۹	۲۳۸۶۵	۲۲۴۵۶
۳ خرداد	۲۵۳۸۲	۲۴۶۴۵	۱۷۹۸۵
۴ تیر	۳۲۵۱۶	۲۳۴۶۴	۲۳۴۶۴
۵ مرداد	۳۶۶۴۸	۲۱۵۶۳	۲۵۴۵۶
۶ شهریور	۲۴۳۵۳	۲۵۳۸۲	۲۴۳۵۳
۷ مهر	۲۹۲۲۸	۲۴۷۶۲	۲۱۵۶۴
۸ آبان	۳۰۷۰۷	۳۰۷۰۷	۲۶۵۴۶
۹ آذر	۳۲۲۰۹	۲۹۲۲۸	۲۹۲۳۰
۱۰ دی	۳۲۷۸۲	۳۱۶۳۴	۳۰۷۰۷
۱۱ بهمن	۳۹۲۱۷	۳۳۶۶۵	۳۱۳۱۱
۱۲ اسفند	۳۳۶۵۶	۳۱۶۳۴	۳۰۷۰۷

جدول ۲: میزان ترکیب اولئوروپین در میوه زیتون *Olea europaea* L. در سال ۱۳۸۴

ماه‌های سال	نمونه استان گیلان	نمونه استان تهران	نمونه استان فارس
.	ppm	ppm	ppm
۱ خرداد	۳۱۶۳۴	۲۵۴۵۳	۱۴۵۱۲
۲ تیر	۳۵۳۲۸	۲۹۷۴۰	۲۱۵۶۳
۳ مرداد	۳۰۸۹۲	۲۰۴۸۹	۱۱۷۰۲
۴ شهریور	۲۸۸۶۵	۱۹۶۳۱	۲۲۰۹۵
۵ مهر	۲۷۴۵۶	۲۰۵۰۲	۱۴۲۱۴
۶ آبان	۲۶۵۴۶	۱۷۹۸۵	۱۶۹۱۵
۷ آذر	۲۵۴۶۵	۱۶۹۱۵	۱۵۵۱۲

جدول ۳: تغییرات ترکیب فنل اولئوروپین در میوه و برگ

(برحسب میلی گرم بر گرم وزن ماده خشک)

Dec 30	Jul 24	Jun 15	May 31	May 18	May 3	Apr 20	Apr 6	Mar 23	Mar 8	Feb 11	Feb 1	میوه
۴۴۴	۱۴	۲۰	۲۴	۲	۱۵	۳	۳	۲	۲	۴	۳	برگ
۱۳۸	۷۷	۱۶۰	۱۸۶	۱۹۶	۱۸	۱۵۶	۶۴	۹۴	۳۱	۶	۲۰	

بحث

Pallas, 1827; Cruess and Alsberg, 1934; Juven et al.,)

(1968). برگ‌های زیتون دارای حدود ۶۰ الی ۹۰ میلی‌گرم در هر گرم (وزن خشک) اولئوروپین دارد (Le Tutour & Guedon, 1992) در بررسی که توسط Ryan و همکاران (۲۰۰۳) در کشور استرالیا در مورد روند تغییر میزان ترکیب فنلی اولئوروپین در برگ و میوه درخت زیتون (جدول ۳) مقدار متفاوتی را نشان داد.

ترکیب اولئوروپین در مقیاس زیاد در برگ مشاهده شده است که معمولاً در آخر فصل این ترکیب افزایش می‌یابد (Ryan et al., 2003).

با توجه به اینکه در حال حاضر گونه‌های زیتون به عنوان گیاهی همیشه سبز در ۲۴ استان کشور مبادرت به اصلاح باغ‌های زیتون شده است و از تاثیرات دارویی و اثر بخشی این گیاه می‌توان جهت صنایع دارویی در کشور استفاده نمود. همانطور که در جداول شماره ۱ و ۲ مشاهده می‌نمایید، بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین در میوه از استان گیلان با ۳۵۳۲۸ ppm و تهران با ۲۹۷۴۰ ppm در تیرماه و در مورد استان فارس با ۲۲۰۹۵ ppm در شهریورماه محاسبه گردید. همچنین بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین در نمونه برگ سه استان گیلان، تهران و فارس به ترتیب ۳۹۲۱۷، ۳۳۶۶۵ و ۳۱۳۱۱ ppm در برگ زیتون در بهمن‌ماه می‌باشد. همان‌طور که مشاهده می‌نمایید میزان رطوبت در تشکیل این ترکیب تأثیر داشته است.

نتیجه‌گیری نهایی

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق همچنین با توجه به اثر ترکیب اولئوروپین (اثرات آنتی اکسیدانی و ضدویروس)، در صنایع دارویی می‌توانند نسبت به زمان برداشت و استخراج ترکیب اولئوروپین در سه استان گیلان، تهران و فارس اقدام نمود. بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین برگ در بهمن ماه (گیلان ۳۹۲۱۷ ppm، تهران ۳۳۶۶۵ ppm و فارس ۳۱۳۱۱ ppm) و بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین در میوه در تیر ماه (گیلان ۳۵۳۲۸، تهران ۲۹۷۴۰ ppm) و در شهریور ماه (فارس ۲۲۰۹۵ ppm) می‌توان برداشت نمود.

در این تحقیق نمونه‌های برگ هر ماه، از گیاه جمع‌آوری شدند (جدول ۱). البته نمونه‌برداری از میوه از خرداد تا آذرماه همان سال صورت گرفت (جدول ۲). طبق بررسی‌های صورت گرفته از جداول ۱ و ۲ چنین بدست می‌آید که بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین میوه، از استان گیلان با ۳۵۳۲۸ ppm و تهران با ۲۹۷۴۰ ppm در تیرماه و در مورد استان فارس با ۲۲۰۹۵ ppm در شهریور ماه محاسبه گردید. این تحقیق نشان داد که میوه زیتون در تیرماه با زمان رسیدگی کامل، از بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین نسبت به دو استان گیلان و تهران برخوردار است. پس از آن، با تغییر رنگ، میزان این ترکیب تغییر محسوسی داشته است. همچنین بالاترین میزان ترکیب اولئوروپین در نمونه برگ سه استان گیلان، تهران و فارس به ترتیب ۳۹۲۱۷، ۳۳۶۶۵ و ۳۱۳۱۱ ppm در برگ زیتون در بهمن‌ماه می‌باشد.

نتایج نشان می‌دهد که زمان رسیدگی کامل میوه ترکیب‌های فنلی موجود در میوه زیتون کاهش می‌یابد. یکی از خصوصیات مهم در برگ و میوه گیاه، وجود ترکیب‌های فنلی با فعالیت ضدآکسید کنندگی است که از جمله می‌توان ترکیب اولئوروپین را که به مقدار زیادی برگ (۶۰ الی ۹۰ میلی‌گرم در ۱ کیلو ماده خشک) و میوه وجود دارد، نام برد (Amiot et al., 1986).

مقدار ترکیب اولئوروپین برای مثال از ۱۸ گرم تا ۶۰ گرم در یک کیلو برگ‌های خشک زیتون گزارش شده است. اگرچه این اختلاف ممکن است نشان دهنده واقعی ژنتیکی یا پیشرفت بیان زمان تحت شرایط محیطی باشد، ولی او می‌تواند همچنان به دلیل جداسازی غیرکافی یا استخراج غیرکامل از ترکیب‌های فنلی باشد.

بیش از یک دوره ۳۰ ساله، از زمانی که Panizzi و همکاران (۱۹۶۰) اولئوروپین را تجزیه کردند، استخراج از اندام‌های مختلف درخت زیتون به فراوانی بررسی گردید. از جمله اینکه اولئوروپین در تمام اندام‌های درخت زیتون مثل برگ‌ها، غنچه (جوانه)، میوه، چوب، پوست و ریشه وجود دارد

سپاسگزاری

از مسئولین محترم در موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع
کشور بخاطر زحماتی که در این طرح متحمل شده اند تشکر
و قدردانی می نمایم.

منابع

آمارنامه کشاورزی (۱۳۸۱-۸۲). انتشارات وزارت جهاد
کشاورزی، ۱۳۸۳.
صانعی، ص. (۱۳۷۸). همیشه لاغر باشید. انتشارات کنکاش،
چاپ زمان.

Amiot, M.J., Fleuriet,A. and Macheix, J.J. (1986)
Importance and evolution of phenolic compounds
in Olive during growth and maturation. Journal
Agricultural Food Chemistry, 34: 823-826.

**Aruoma, O.I. , Deiana, M. , Jenner, A. , Halliwell,
B., Kaur, H., Banni, S., Corongiu, F.P., Assunta,
D.M. and Aeschbach, R. (1998)** Effect of
hydroxytyrosol found in extra virgin olive oil on
oxidative DNA damage and on low-density
lipoprotein oxidation. J. Agric. Food Chem., 46:
5181-5187.

**Coni, E.; Di Benedetto ,R.; Di Pasquale, M.;
Masella, R.; Modesti, D.; Mattei, R.; Carlini,
E.A. (2000).** Protective effect of oleuropein, an
olive oil biophenol, on low density lipoprotein
oxidizability in rabbits. Lipids. 35(1):45-54.

Crueess, W.V. and Alsberg, C.L. (1934) The bitter
glucoside of the olive. *J Amer Chem Soc* 56: 2115-
17.

Harborne, J.B. (1980) in Encyclopedia of plant
Physiology. New Series (Bell,E.A. and Charlwood,
B.V., rds) vol. 8, p. 239. springer, Berlin.

**Huang, S.L.; Zhang, L.; Huang, P.L.; Chang, Y.T.
and Huang, P.L. (2003).** Anti-HIV activity of
olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell
gene expression by HIV-1 infection and OLE
treatment. Biochemical and Biophysical Research
Communications, Vol. 307, No. 4,1029-1037.

Juven, B. , Samish, Z. and Henis, Y. (1968)
Identification of oleuropein as a natural inhibitor of
lactic acid fermentation. *Israel J Agr Res* 18: 137-
138.

Montedoro,G. (1972) Phenolic substances present in
virgin olive oil. Note I: Identification of phenolic
acids and their antioxidant power. *Sci. Tecnol.
Aliment.* ,177-186.

Panizzi, L., Scarpati, M.L., Oriente, G. (1960). *Gazz
Chim Ital* 90, 1449.

Perrin, J.L. (1992) Les compoese mineurs et les
antioxigenes naturels de l' olive et de son huile.
Riv. Ital. Sostanze Grasse, 39:25-32.

Extraction and compare of Oleuropein compound in *olea europaea* L. in three province state of Gilan, Tehran and Fars

Jaimand, K¹, Rezaee, M.B¹, Ashtiany, A.N², Golipoor, M.²

1. Academic members of Department of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran
2. Department of Medicinal Plants, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran

Abstract

Phenolic compounds in Olive fruits are important factors to consider in order to evaluate the quality of virgin Olive oil. Several studies concerning phenolic compounds in the Olive have already been carried out. Oleuropein, have pharmacological properties which have a antibiotic and antiviral effects. In this research, we study about determination of oleuropein in leaf and fruits of *Olea europaea* L. from three province of Gilan, Tehran and Fars are colected. After collection of samples in every months for leaves and fruits from June up to December, samples are dried and Extraction was with methanol and determined by HPLC. In this study, oleuropein in leaves from three proviance of Gilan, Tehran and Fars are 39217, 33665 and 31311 ppm in January respectively, and in fruits are 35328 and 29740 ppm in July and 22095 ppm in September, respectively. These amounts shows that highest are in Gilan provience and Fars have a lowest.

Key words: *Olea europaea* L., Oleuropein, HPLC