

تأثیر زمان برداشت میوه روی میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن برخی از ارقام زیتون (*Olea europaea* L.) در منطقه رودبار

صدیقه رستمی اوزمچلوئی^{۱*}، محمود قاسم نژاد^۲، محمد رضانی ملک رودی^۳

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه گیلان

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان

۳- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی استان گیلان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۷)

چکیده

یکی از مهمترین عامل موثر بر کیفیت روغن زیتون، برداشت به موقع میوه هاست. در این پژوهش، اثر زمان برداشت میوه بر میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن چهار رقم زیتون زرد، روغنی، آربیکین و کراتینا در منطقه رودبار، استان گیلان مطالعه شد. به این منظور ویژگی‌هایی از جمله میزان کلروفیل کل، کاروتنوئید کل، فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی اکسیدانی، غلظت عصاره مورد نیاز برای بازدارندگی ۵۰ درصد از رادیکال DPPH (IC₅₀) و کارایی ضد رادیکالی (AE) روغن زیتون اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تاخیر در برداشت میوه میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن از جمله کلروفیل کل، کاروتنوئید کل، فنول کل و فلاونوئید کل روغن را در هر چهار رقم مورد مطالعه کاهش داد، که در نتیجه فعالیت آنتی اکسیدانی کل و کارایی ضد رادیکالی روغن کاهش پیدا کرد، اما IC₅₀ افزایش یافت. نتایج همچنین نشان داد که بین فعالیت آنتی اکسیدانی کل با کارایی ضد رادیکالی (+۰/۹۱۹)، کلروفیل کل (+۰/۵۶۲)، کاروتنوئید کل (+۰/۵۱۱)، فنول کل (+۰/۸۶) و فلاونوئید کل (+۰/۸۶۸) همبستگی مثبت و معنی‌دار، اما با IC₅₀ (-۰/۸۷) همبستگی منفی معنی‌دار وجود داشت. در کل، بالاترین میزان ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن زمانی مشاهده شد که میوه‌های سه رقم زرد، روغنی و آربیکین در محدوده زمانی ۱۵ تا ۲۶ مهر ماه و در رقم کراتینا ۲۶ مهر تا ۱۰ آبان برداشت شدند. بعلاوه، تاخیر در برداشت باعث افزایش درصد روغن میوه زیتون گردید، اما ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن و ارزش غذایی آن را کاهش داد.

کلید واژگان: روغن زیتون، زمان برداشت، فعالیت آنتی اکسیدانی.

۱- مقدمه

درخت زیتون (*Olea europaea* L.) یکی از مهم ترین درختان میوه در منطقه مدیترانه است که روغن زیتون در رژیم غذایی مردم این منطقه جایگاه ویژه ای را به خود اختصاص داده است [۱۳]. این میوه اهمیت اقتصادی زیادی در کشورهای حوزه مدیترانه دارد، بطوریکه ۹۸ درصد از درختان زیتون کشت شده در جهان در این مناطق کشت شده اند [۲]. عمده مصرف زیتون به صورت روغن زیتون است و ترکیبات موجود در روغن زیتون در کاهش بیماری های قلبی عروقی و سرطان ها بسیار موثر است [۱۱]. تحقیقات صورت گرفته در سال های اخیر در خصوص ارزش تغذیه ای روغن زیتون باعث افزایش تمایل مردم نسبت به مصرف آن و در نتیجه رشد تولید این میوه در ایران و جهان شده است [۱]. مصرف روغن زیتون در رژیم غذایی باعث کاهش بروز انواع بیماری ها می شود [۲۴]. این ویژگی تغذیه ای و دارویی روغن زیتون را می توان به مقدار زیادی در ارتباط با ترکیبات فنولی آن دانست، چرا که مسئول ایجاد ویژگی های آنتی اکسیدانی و حسی روغن زیتون می باشد [۷]. مهم ترین ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن زیتون را ترکیبات فنولی، توکوفرول ها، و رنگدانه ها تشکیل می دهند [۳۴]. ترکیبات فنولی زیتون اهمیت دیگر هم دارد، چرا که ویژگی هایی مانند رنگ، طعم و بوی روغن به آنها نسبت داده می شود [۲۱]. همچنین این ترکیبات باعث پایداری روغن در برابر اکسیداسیون شده [۱۴] و باعث خنثی کردن رادیکال های آزاد اکسیژن می شود [۲۵]. ترکیبات فنولی در میوه زیتون از عوامل مهم ارزیابی کیفیت روغن زیتون تصفیه نشده است [۲۵] و باعث پایداری روغن در برابر اکسیداسیون می شود.

نوع و میزان ترکیبات شیمیایی روغن زیتون عمدتاً متأثر از عوامل مختلفی از جمله ژنتیک، زمان برداشت میوه و چگونگی نگهداری میوه ها قبل از استخراج روغن می باشد [۱۹]. همچنین نحوه نگهداری روغن فرآوری شده نیز می تواند روی کیفیت روغن تاثیر بگذارد [۱۹]. در سال های اخیر از میزان ترکیبات فنولی و سایر ترکیبات آنتی اکسیدانی جهت ارزیابی کیفیت روغن زیتون تصفیه نشده استفاده می کنند [۲۰]. گزارش های قبلی نشان داد که با پیشرفت رسیدگی میوه زیتون میزان ترکیب فنولی اولئوروپین

کاهش یافت، اما غلظت تیروزول و هیدروکسی تیروزول که از جمله ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا هستند، افزایش یافت [۲۸]. در مطالعه ای که روی چهار رقم زیتون و در چهار منطقه مختلف کشور ایتالیا انجام گرفت نشان داد نوع و میزان ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی روغن زیتون به مقدار زیادی تحت تاثیر نوع رقم و منطقه کشت قرار می گیرد [۴]. نتایج تحقیقات جمالیزاده و همکاران (۱۳۸۵) نشان داد که درصد روغن با پیشرفت رسیدگی میوه ها در هر سه رقم زیتون زرد، روغنی و لچینو در منطقه رودبار افزایش یافت، در حالی که میزان پلی فنول های آن کاسته شد [۱۶].

بطور کلی، طبق گزارش لای [۱۸] بیش از ۹۴ درصد روغن های زیتون تولید شده در جهان به دلیل اینکه میوه ها در زمان بهینه برداشت نمی شوند، از کیفیت تجاری خوبی برخوردار نیستند. چرا که زمان برداشت بیشترین تاثیر را روی کیفیت روغن، پایداری روغن و ویژگی های حسی آن دارد [۲۸]. بر این اساس، اثر درجه رسیدگی میوه روی ترکیبات آنتی اکسیدانی روغن چهار رقم تجاری زیتون بررسی شده است.

۲- مواد و روش ها

۲-۱- مواد گیاهی

این پژوهش روی میوه چهار رقم زیتون تجاری، زرد، روغنی، آریکین و کراتینا موجود در باغ مادری علی آباد، شهرستان رودبار، وابسته به ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار انجام شد. در این باغ درختان به فاصله ۶×۸ متر کاشته شده اند و آبیاری درختان در این باغ به روش قطره ای بوده است. از هر رقم ۳ درخت که از نظر ارتفاع، سن، قطر تاج، شرایط تغذیه ای و میزان آبیاری مشابه بودند، انتخاب شدند. برداشت میوه ها برای ارزیابی کیفیت روغن در چهار مرحله در تاریخ های ۱۵ مهر، ۲۶ مهر، ۱۰ آبان و ۲۰ آبان ماه سال ۹۱ انجام شد. روغن کشی از میوه ها توسط دستگاه روغن کشی مکانیکی آزمایشگاهی مدل (Oliomio FranceGOLD) ساخت کشور فرانسه در آزمایشگاه ایستگاه تحقیقاتی زیتون رودبار انجام شد. این دستگاه از سه قسمت آسیاب، همزن و سانتریفیوژ تشکیل شده است و کاربرد آن روغن کشی در مقیاس آزمایشگاهی است. بدین منظور میوه ها پس

اسپکتروفتومتر قرائت شد. غلظت فنول کل بر حسب استاندارد گالیک اسید به صورت (mg GAE/kg oil) محاسبه گردید. اندازه‌گیری فلاونوئید کل مطابق روش دو و همکاران [۱۰] صورت گرفت. ابتدا ۱۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده به ترتیب با ۱۷۰۰ میکرولیتر اتانول ۳۰ درصد، ۷۵ میکرولیتر نیتريت سدیم (NaNO₂) ۰/۵ مولار و ۷۵ میکرولیتر کلرید آلومینیوم (AlCl₃) ۰/۳ مولار مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیدروکسید سدیم (NaOH) یک مولار اضافه شد و همزه شد گردید، پس از ۱۵-۱۰ دقیقه میزان جذب توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۰۶ نانومتر قرائت گردید. غلظت فلاونوئید کل بر حسب استاندارد کاتچین به صورت (mg Catechin/kg oil) محاسبه گردید.

ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها از طریق ویژگی مهارکنندگی رادیکال آزاد ۲ و ۲ دی‌فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل^۳ (DPPH) مطابق روش دو و همکاران [۱۰] با کمی تغییر تعیین شد. برای این منظور مقدار ۵۰ میکرولیتر از عصاره متانولی داخل لوله آزمایش ریخته شد و ۹۵۰ میکرولیتر محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH به آن‌ها اضافه گردید. محلول حاصل به سرعت به هم زده شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در یک محفظه تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. نمونه شاهد (صفر) و استاندارد به ترتیب شامل یک میلی‌لیتر حلال استخراج و یک میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار DPPH بود. سپس میزان جذب استاندارد و نمونه با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۱۷ نانومتر تعیین گردید. حجم آزمون برای نمونه‌ها، بلانک (صفر) و استاندارد یک میلی‌لیتر بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به صورت درصد بازدارندگی DPPH با استفاده از رابطه ذیل محاسبه شد.

$$\text{Antioxidant activity (\%DPPHSc)} = (A_{\text{cont}} - A_{\text{samp}}) / A_{\text{cont}} \times 100$$

%DPPH_{sc} = درصد بازدارندگی رادیکال DPPH، A_{cont} = میزان جذب DPPH، A_{samp} = میزان جذب (نمونه + DPPH)

برای اندازه‌گیری غلظت عصاره مورد نیاز برای بازدارندگی ۵۰ درصد از رادیکال DPPH^۴ (IC₅₀) و کارایی ضد رادیکالی^۵ (AE) غلظت های ۲۰، ۵۰، ۷۰ و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره به

از شستشوی، توسط آسیاب فلزی خرد شدند، میوه‌های آسیاب شده به صورت خمیر یکنواختی در آمدند و سپس به منظور تسریع در فرآیند استخراج روغن، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد به آرامی هم زده شدند. در نهایت برای جداسازی روغن، خمیر آماده شده به دستگاه سانتریفیوژ منتقل گردید. لایه‌های روغنی به آرامی از فازهای زیرین آن جدا شدند. روغن‌های حاصل در شیشه‌های تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام ارزیابی‌های کیفی نگهداری شدند [۸].

۲-۲- ارزیابی ویژگی‌ها

اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید و کلروفیل کل روغن توسط روش اصلاح شده مینگوتز- مسکوئرا و همکاران [۲۲] انجام شد. برای این منظور یک گرم نمونه روغن در ۱۰ میلی‌لیتر حلال ایزواکتان حل شد و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (PG Instrument +80, Leicester, United Kingdom) میزان جذب کلروفیل و کاروتنوئید به ترتیب در دو طول موج ۶۷۰ و ۴۷۰ نانومتر قرائت شد. در نهایت میزان کلروفیل و کاروتنوئید به صورت میلی‌گرم بر کیلوگرم طبق فرمول زیر محاسبه شدند.

$$\begin{aligned} \text{Chlorophyll (mg/kg)} &= A_{670} \times 10^6 / 613 \times 100 \times d \\ \text{Carotenoid (mg/kg)} &= A_{470} \times 10^6 / 2000 \times 100 \times d \\ A &= \text{جذب نمونه، } D = \text{ضخامت سلول اسپکتروفتومتر} \end{aligned}$$

استخراج ترکیبات فنولی با استفاده از حلال‌های متانول، استونیتریل و n- هگزان پس از سانتریفیوژ شدن و دستگاه تقطیر در خلا^۱ مدل (Eppendorf, Concentrator plus, Germany) مطابق روش تغییر داده شده هاشم پور و همکاران [۱۵] انجام گرفت. عصاره بدست آمده با متانول به حجم یک میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار فنول کل عصاره‌ها با استفاده از روش فولین سیکالتو^۲ تعیین شد [۳۲]. به طور خلاصه، ۵۰ میکرولیتر از عصاره به ۲/۵ میلی‌لیتر فولین رقیق شده با آب مقطر (۱۰ برابر رقیق شده) افزوده شد. پس از ۱۰ تا ۱۵ دقیقه قرار گرفتن در تاریکی، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم ۷/۵ درصد اضافه گردید و به مدت ۱/۵ تا ۲ ساعت در تاریکی قرار گرفت، سپس میزان جذب محلول‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه

3. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

4. Half maximal inhibitory concentration

5. Antiradical efficiency (AE)

1. Rotary Evaporator

2. Folin-Ciocalteu

صورت جداگانه داخل لوله آزمایش ریخته شدند و به ترتیب غلظت‌های ۹۸۰، ۹۵۰، ۹۳۰ و ۹۰۰ میکرولیتر محلول DPPH ۰/۱ میلی مولار به آن‌ها اضافه گردید. با داشتن درصد بازدارندگی مربوط به چهار غلظت مختلف و رسم خط رگرسیون، مقدار IC_{50} و کارایی ضد رادیکالی ($AE=1/IC_{50}$) برای هر نمونه در سه تکرار محاسبه شد [۱۲]. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ تجزیه شدند و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- کلروفیل کل و کاروتنوئید کل

نتایج نشان داد که با پیشرفت رسیدگی میوه و تاخیر در برداشت میزان کلروفیل کل و کاروتنوئید کل در هر چهار رقم کاهش یافت. در برداشت اول میزان کلروفیل کل در ارقام زرد، روغنی، آریبکین و کراتینا به ترتیب ۵/۶۴، ۶/۳۳، ۸/۱۲ و ۵/۸۷ میلی گرم

به ازای هر کیلوگرم بود و در برداشت آخر این مقادیر به ترتیب به ۴/۹۲، ۴/۶۰، ۴/۲۷ و ۴/۴۷ میلی گرم بر کیلوگرم روغن کاهش یافت. در برداشت چهارم بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به رقم روغنی با میانگین ۴/۶ میلی گرم بر کیلوگرم بود و رقم کراتینا، آریبکین و زرد به ترتیب با میانگین ۴/۴۷، ۴/۲۷ و ۳/۹۲ میلی گرم بر کیلوگرم از نظر میزان کلروفیل بعد از رقم روغنی قرار گرفتند (جدول ۱). میزان کاروتنوئید کل در برداشت اول در ارقام زرد، روغنی، آریبکین و کراتینا به ترتیب ۵/۷، ۵/۵ و ۴/۹۲ میلی گرم بر کیلوگرم روغن بود که در برداشت آخر به ۳/۸۴، ۴/۲۳ و ۴/۱۵ و ۴/۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم کاهش یافت. بیشترین مقدار کاروتنوئید کل در برداشت چهارم مربوط به رقم روغنی با ۴/۲۳ میلی گرم بر کیلوگرم بود و ارقام آریبکین، کراتینا و زرد به ترتیب با ۴/۱۵، ۴/۱۵ و ۳/۸۴ میلی گرم بر کیلوگرم کاروتنوئید بعد از رقم روغنی قرار گرفتند (جدول ۱). نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که بین کاروتنوئید کل با کلروفیل کل ($r=0.936$) همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود دارد (جدول ۳).

جدول ۱ تغییرات میزان کلروفیل کل، کاروتنوئید کل و فنول کل روغن ارقام مختلف زیتون در زمان‌های مختلف برداشت

زمان برداشت	ارقام	کلروفیل کل (mg/kg oil)	کاروتنوئید کل (mg/kg Oil)	فنول کل (mg GAE/kg Oil)
اول	زرد	$5.64 \pm 0.28^{c-f}$	4.70 ± 0.05^{cde}	599.51 ± 4.48^a
	روغنی	6.33 ± 0.19^{bc}	5.00 ± 0.05^{bc}	544.78 ± 6.29^{ab}
	آریبکین	8.12 ± 0.16^a	5.50 ± 0.10^a	$327.67 \pm 2.79^{a-f}$
	کراتینا	5.87 ± 0.05^{cd}	4.92 ± 0.01^c	498.26 ± 0.8^{abc}
دوم	زرد	$5.31 \pm 0.03^{d-g}$	4.45 ± 0.05^{efg}	$355.95 \pm 8.95^{a-e}$
	روغنی	$5.61 \pm 0.18^{c-f}$	4.51 ± 0.05^{def}	$376.63 \pm 30.09^{a-d}$
	آریبکین	7.15 ± 0.03^b	5.29 ± 0.07^{ab}	$194.79 \pm 3.28^{c-f}$
	کراتینا	5.74 ± 0.05^{cde}	4.57 ± 0.01^{def}	$374.20 \pm 3.34^{a-d}$
سوم	زرد	4.73 ± 0.20^{ghi}	4.37 ± 0.16^{efg}	61.61 ± 21.68^{ef}
	روغنی	4.69 ± 0.35^{ghi}	4.47 ± 0.12^{efg}	48.53 ± 3.28^{ef}
	آریبکین	4.89 ± 0.03^{fgh}	4.82 ± 0.05^{cd}	158.91 ± 16.28^{def}
	کراتینا	$4.96 \pm 0.05^{e-h}$	4.31 ± 0.05^{fg}	$279.63 \pm 7.76^{b-f}$
چهارم	زرد	3.92 ± 0.15^i	3.84 ± 0.04^h	31.51 ± 17.36^f
	روغنی	4.60 ± 0.18^{ghi}	4.23 ± 0.02^{fg}	123.03 ± 1.15^{def}
	آریبکین	4.27 ± 0.07^{hi}	4.15 ± 0.01^{gh}	75.60 ± 9.74^{def}
	کراتینا	4.47 ± 0.01^{hi}	4.15 ± 0.05^{gh}	75.60 ± 4.28^{def}

* ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون توکی نشان ندادند

غلظت فنول کل با پیشرفت رسیدگی میوه زیتون کاهش می‌یابد، لذا محتوای پلی‌فنول‌ها پایداری اکسایشی، ویژگی‌های غذایی و طعم روغن زیتون را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد [۲۸]. به طور کلی، مقدار ترکیبات فنولی روغن زیتون به محل کشت، آب و هوا، تنوع و درجه رسیدگی میوه زیتون در زمان برداشت بستگی دارد [۶]. همچنانکه بلوغ و رنگ میوه کامل می‌شود، محتوای پلی‌فنول‌ها و برخی دیگر از اجزای عطر و طعم به سرعت کاهش می‌یابد [۹]. در مطالعه‌ای تاثیر رسیدگی میوه روی میزان فنول رقم زیتون میشن نشان داد که با پیشرفت رسیدگی میوه میزان فنول کل کاهش پیدا کرد [۳۰]. دگ و همکاران [۹] نیز نشان دادند با پیشرفت رسیدگی میوه محتوای پلی‌فنول‌ها و برخی دیگر از اجزای عطر و طعم به سرعت کاهش می‌یابد، آنها همچنین گزارش کردند که مجموع سطوح پلی‌فنول‌ها همبستگی منفی آشکاری با افزایش درجه بلوغ میوه هر دو رقم سوری^۱ و بارنئا^۲ بدون در نظر گرفتن سال یا عملکرد داشت. گزارش‌های دیگری نیز نشان داد با پیشرفت رسیدگی میوه ترکیبات فنولی کاهش یافت [۲۸، ۵].

۳-۳- فلاونوئید کل

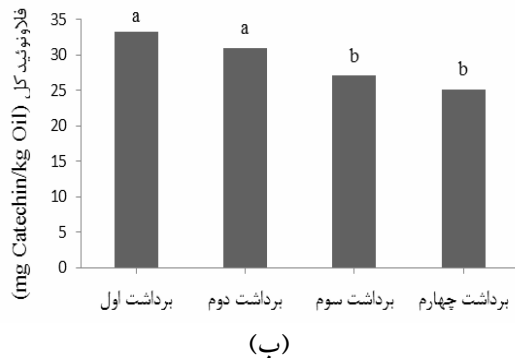
نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اثر متقابل رقم و زمان برداشت بر میزان فلاونوئید کل معنی‌دار نمی‌باشد (داده‌ها نشان داده نشد). مقایسه میانگین ارقام مختلف زیتون نشان داد که رقم زرد با میانگین ۳۱/۱۶ میلی‌گرم کاتچین بر کیلوگرم روغن بالاترین مقدار فلاونوئید کل را داشته است و ارقام روغنی، آریکین و کراتینا به ترتیب با میانگین ۲۸/۳۵، ۲۸/۴۳ و ۲۸/۵۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم در رتبه‌های بعدی قرار گرفتند، اما بین این سه رقم اختلاف معنی‌داری از نظر مقدار فلاونوئید کل وجود نداشت (شکل ۱-الف). مقایسه میانگین‌ها برای زمان‌های مختلف برداشت نشان داد که با پیشرفت رسیدگی میوه و تاخیر در برداشت مقدار فلاونوئید کل کاهش یافت، به طوری که میزان فلاونوئید کل در برداشت اول و دوم بیشتر از برداشت سوم و چهارم بوده است (شکل ۱-ب). برداشت اول و دوم به ترتیب در تاریخ ۱۵ مهر و ۲۶ مهر و برداشت سوم و چهارم به ترتیب ۱۰ آبان و ۲۰ آبان ماه انجام گرفت. نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که بین فلاونوئید کل با

رنگیزه‌ها مانند کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها مسئول ایجاد رنگ روغن می‌باشند، بعلاوه در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی روغن زیتون نیز می‌توانند نقش داشته باشند، بنابراین، یکی از عوامل اصلی انتخاب نوع روغن توسط مصرف‌کنندگان می‌باشند [۵]. با پیشرفت رسیدگی میوه زیتون فعالیت فتوسنتزی میوه در نتیجه مقدار کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها کاسته می‌شود. بطوریکه در پایان دوره بلوغ و رسیدگی میوه زیتون رنگ بنفش، ارغوانی یا سیاه به دلیل تشکیل آنتوسیانین‌ها تشکیل می‌شود [۲۶]. درجه رسیدگی میوه زیتون در غلظت کلروفیل روغن مهم است. در مراحل اولیه برداشت زیتون، کلروفیل‌ها غالب هستند، اما در اواخر دوره برداشت با پیشرفت رسیدگی میوه زیتون غلظت کلروفیل‌ها کاهش می‌یابد، که این کاهش در ارقام مختلف متفاوت بوده و می‌تواند به فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز ارتباط داشته باشد [۲۷]. بلتران و همکاران [۵] گزارش کردند که در طی رسیدگی میوه مقدار رنگیزه‌ها کاهش می‌یابد، این کاهش در کلروفیل نسبت به کاروتنوئید سریعتر است. همچنین در مطالعه دیگر اثر رقم و زمان برداشت روی ترکیبات فنولی و تلخی روغن زیتون مطالعه شد و نشان داد محتوای کلروفیل با افزایش شاخص رسیدگی کاهش یافت [۳۳]. گزارش‌های قبلی همچنین نشان داد که کاهش محتوای کلروفیل کل با پیشرفت رسیدگی میوه بیشتر است [۳].

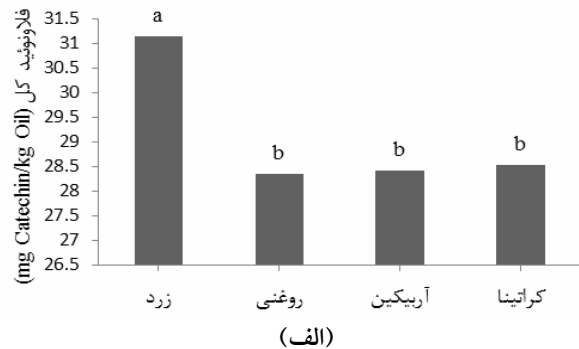
۳-۲- فنول کل

نتایج نشان داد که با تاخیر در برداشت میوه‌ها و پیشرفت رسیدگی آن میزان فنول کل در هر چهار رقم زیتون به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد. در برداشت چهارم (۲۰ آبان) بیشترین مقدار فنول کل مربوط به رقم روغنی با میانگین ۱۲۳/۰۳ میلی‌گرم گالیک اسید بر کیلوگرم روغن بدست آمد و ارقام آریکین، کراتینا و زرد به ترتیب با میانگین ۷۵/۶، ۷۵/۶ و ۳۱/۵۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم از نظر میزان فنول کل بعد از رقم روغنی قرار گرفتند، اگرچه از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین ارقام مختلف از لحاظ میزان فنول کل روغن مشاهده نشده است (جدول ۱). نتایج همبستگی داده‌ها نشان داد که بین میزان فنول کل با کلروفیل کل ($r=0.52$) و کاروتنوئید کل ($r=0.52$) روغن همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت (جدول ۳).

یعنی تاخیر در برداشت با پیشرفت رسیدگی میوه زیتون، همزمان با کاهش میزان فلاونوئید، میزان فنول کل، کلروفیل و کاروتنوئید کل روغن نیز کاسته می شود.



کلروفیل کل ($r=0.631$)، کاروتنوئید کل ($r=0.579$) و فنول کل ($r=0.860$) همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد (جدول ۱).



شکل ۱ (الف) میزان فلاونوئید کل روغن ارقام مختلف زیتون (ب) تغییرات میزان فلاونوئید کل در زمان های مختلف برداشت *ستون های دارای حروف مشابه تفاوت معنی داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون توکی نشان ندادند.

معنی دار وجود داشت (جدول ۳). می توان دریافت که رنگیزه های گیاهی از جمله کلروفیل و کاروتنوئید همچنین ترکیبات فنولی و فلاونوئید فعالیت آنتی اکسیدانی کل روغن زیتون را تشکیل می دهند.

برخلاف فعالیت آنتی اکسیدانی با پیشرفت رسیدگی میوه میزان IC_{50} روغن افزایش یافت. در برداشت اول میزان IC_{50} برای رقم آریبکین ۱/۲۷ میلی گرم در کیلوگرم روغن بود، در حالی که در برداشت چهارم به ۷/۳۵ میلی گرم در کیلوگرم روغن رسید. در رقم کراتینا از ۰/۵۵ در برداشت اول به ۱۱/۸۵ میلی گرم در کیلوگرم روغن در برداشت آخر رسیده است، همچنین میزان IC_{50} در رقم زرد از ۰/۵۹ به ۶/۶۶ و در رقم روغنی از ۰/۶۲ به ۹ میلی گرم در کیلوگرم روغن رسیده است (جدول ۱).

نتایج همبستگی داده ها نشان داد که بین IC_{50} با کلروفیل کل ($r=-0.7614$) کاروتنوئید کل ($r=-0.588$) فنول کل ($r=-0.745$)، فلاونوئید کل ($r=-0.782$) و فعالیت آنتی اکسیدانی ($r=-0.870$) همبستگی منفی و معنی دار وجود دارد (جدول ۳). با پیشرفت رسیدگی میوه و تاخیر در برداشت میزان کارایی ضد رادیکالی (AE) روغن در هر چهار رقم کاهش یافت. نتایج همبستگی داده ها نشان داد که بین AE با کلروفیل کل ($r=0.583$)، کاروتنوئید کل ($r=0.567$) فنول کل ($r=0.900$)، فلاونوئید کل

شین و همکاران [۳۱] اثر رسیدگی روی مقدار فلاونوئید کل میوه توت فرنگی را بررسی کردند و نشان دادند که با پیشرفت رسیدگی میوه مقدار فلاونوئید کل در میوه کاهش یافت. در این پژوهش نیز با تاخیر در برداشت و پیشرفت رسیدگی میوه میزان فلاونوئید کل روغن زیتون کاهش پیدا کرده است.

۳-۴- فعالیت آنتی اکسیدانی کل، IC_{50} و کارایی ضد رادیکالی (AE)

نتایج نشان داد که با پیشرفت رسیدگی میوه و تاخیر در برداشت فعالیت آنتی اکسیدانی کل روغن هر چهار رقم کاهش یافت. در برداشت اول میزان درصد مهارکنندگی DPPH در ارقام زرد، روغنی، آریبکین و کراتینا به ترتیب ۷۳/۱۵، ۶۲/۶۳، ۴۶/۴۲ و ۴۵/۹۳ درصد بود، که در برداشت آخر یعنی برداشت تاریخ ۲۰ آبان به ترتیب به ۱۵/۸۱، ۱۱/۲۶، ۱۴/۱۱ و ۱۵/۸۱ درصد کاهش یافت. در برداشت چهارم بیشترین میزان درصد بازدارندگی DPPH با میانگین ۱۵/۸۱ درصد مربوط به رقم زرد و کراتینا بود، رقم آریبکین و روغنی به ترتیب با میانگین ۱۴/۱۱ و ۱۱/۲۶ درصد بعد از رقم زرد و کراتینا قرار گرفتند (جدول ۲). نتایج همبستگی داده ها نشان داد که بین فعالیت آنتی اکسیدانی با کلروفیل کل ($r=0.562$)، کاروتنوئید کل ($r=0.511$)، فنول کل ($r=0.86$) و فلاونوئید کل ($r=0.868$) همبستگی مثبت و

($r=0/839$) و فعالیت آنتی اکسیدانی ($r=0/919$) همبستگی مثبت و معنی دار وجود دارد (جدول ۳).

در تحقیقات قبلی همبستگی مثبت بین فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی کل در میوه‌ها گزارش شده است [۱۷]. یعنی میوه‌هایی که دارای میزان پلی فنول بالاتری هستند فعالیت

آنتی اکسیدانی بیشتری را نشان می‌دهند [۲۹]. تاثیر رسیدگی میوه روی محتوی آنتی اکسیدان‌های طبیعی روغن به دست آمده از رقم هوجی بلانکا در فواصل دو هفته‌ای برای سه سال متوالی، مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان آنتی اکسیدان‌ها و عوامل وابسته، با پیشرفت رسیدگی میوه کاهش یافت [۵].

جدول ۲ تغییرات فعالیت آنتی اکسیدانی کل، IC_{50} و AE روغن ارقام مختلف زیتون در زمان‌های مختلف برداشت

زمان برداشت	ارقام	فعالیت آنتی اکسیدانی کل (DPPHSc%)	IC_{50} (mg/kg oil)	AE
اول	زرد	$73/15 \pm 0/24^a$	$0/59 \pm 0/01^e$	$1/69 \pm 0/03^{ab}$
	روغنی	$62/63 \pm 0/51^a$	$0/61 \pm 0/05^{de}$	$1/64 \pm 0/14^{ab}$
	آربیکین	$46/42 \pm 0/87^{ab}$	$1/27 \pm 0/16^{de}$	$0/81 \pm 0/1^{cde}$
	کراتینا	$45/93 \pm 0/07^{ab}$	$0/55 \pm 0/05^e$	$1/84 \pm 0/19^a$
دوم	زرد	$66/72 \pm 2/29^a$	$0/75 \pm 0/03^{de}$	$1/34 \pm 0/06^{a-d}$
	روغنی	$46/25 \pm 3/09^{ab}$	$1/53 \pm 0/53^{de}$	$0/89 \pm 0/04^{b-e}$
	آربیکین	$49/06 \pm 0/23^{ab}$	$0/74 \pm 0/03^{de}$	$1/34 \pm 0/06^{a-d}$
	کراتینا	$60/04 \pm 0/29^a$	$0/64 \pm 0/07^{de}$	$1/58 \pm 0/17^{abc}$
سوم	زرد	$18/94 \pm 1/18^b$	$3/86 \pm 0/74^{cd}$	$0/28 \pm 0/06^e$
	روغنی	$11/29 \pm 1/01^b$	$11/87 \pm 0/75^a$	$0/08 \pm 0^e$
	آربیکین	$40/59 \pm 3/09^{ab}$	$2/07 \pm 0/74^{de}$	$0/68 \pm 0/03^{de}$
	کراتینا	$62/77 \pm 0/42^a$	$0/86 \pm 0/16^{de}$	$1/26 \pm 0/02^{a-d}$
چهارم	زرد	$15/81 \pm 1/82^b$	$6/66 \pm 0/24^{bc}$	$0/15 \pm 0/01^e$
	روغنی	$11/26 \pm 1/01^b$	$9 \pm 0/57^{ab}$	$0/11 \pm 0/01^e$
	آربیکین	$14/11 \pm 0/88^b$	$7/34 \pm 0/01^b$	$0/14 \pm 0^e$
	کراتینا	$15/81 \pm 0/67^b$	$11/85 \pm 1/09^a$	$0/09 \pm 0/02^e$

*ستون‌های دارای حروف مشابه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون توکی نشان ندادند

عصاره استخراج شده از روغن ارقامی که دارای IC_{50} پایینی هستند، نشانه کارایی ضد رادیکالی (AE) بالاتر آنهاست. به عبارت دیگر بدین معنا است که مقادیر کمتری از عصاره‌ی روغن قادر به مهار یا خنثی کردن ۵۰ درصد رادیکال‌های DPPH بوده است. بر این اساس مشخص شد که ارقام مختلف دارای توان آنتی اکسیدانی متفاوتی در مراحل رسیدن خود بودند. ارقام زرد، روغنی، آربیکین و کراتینا کمترین کارایی ضد رادیکالی را در

برداشت آخر نشان دادند. نتایج تحقیقات قبلی نیز نشان داد میزان IC_{50} تحت تاثیر زمان برداشت قرار می‌گیرد، یعنی با پیشرفت رسیدگی میوه زیتون رقم چملائی میزان IC_{50} افزایش یافت [۲۳]. به عبارتی با پیشرفت رسیدگی میوه زیتون و کاهش فعالیت آنتی اکسیدانی، غلظت عصاره بیشتری برای مهار ۵۰ درصد رادیکال آزاد DPPH مورد نیاز است.

جدول ۳ ضرایب همبستگی بین ویژگی های اندازه گیری شده روغن ارقام مختلف زیتون

AE	IC ₅₀	فعالیت آنتی اکسیدانی	فلاونوئید کل	فنول کل	کاروتنوئید کل	کلروفیل کل
					۱	کلروفیل کل
					۰/۹۳۶**	کاروتنوئید کل
				۱	۰/۵۲۰*	فنول کل
			۱	۰/۸۶۰**	۰/۵۷۹*	فلاونوئید کل
		۱	۰/۸۶۸**	۰/۸۶۰**	۰/۵۱۱*	فعالیت آنتی اکسیدانی
	۱	-۰/۸۷۰**	-۰/۷۸۲**	-۰/۷۴۵**	-۰/۵۸۸*	IC ₅₀
۱	-۰/۸۵۵**	۰/۹۱۹**	۰/۸۳۹**	۰/۹۰۰**	۰/۵۶۷*	AE

*، **: به ترتیب معنی داری در سطوح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

۴- نتیجه گیری

با توجه به نتایج بدست آمده در این پژوهش، تفاوت معنی داری بین ترکیبات آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده در زمان های مختلف برداشت در هر چهار رقم مشاهده شد. برداشت زود هنگام میوه زیتون برای استحصال روغن باعث افزایش میزان کلروفیل کل، کاروتنوئید کل، فنول کل و فلاونوئید کل شد. چنین روغن هایی دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتر، کارایی ضد رادیکالی بیشتر و در عوض میزان IC₅₀ کمتری می باشند، در صورتیکه تاخیر در برداشت موجب کاهش چشمگیر در ارزش غذایی و ترکیبات آنتی اکسیدانی در روغن تمامی ارقام مورد مطالعه گردید. بطوریکه بالاترین کیفیت روغن از نظر ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی در محدوده زمانی ۱۵ تا ۲۶ مهر ماه برای سه رقم زرد، روغنی و آربیکن و ۲۶ مهر تا ۱۰ آبان برای رقم کراتینا حاصل شد.

سپاسگزاری

از دانشگاه گیلان برای در اختیار قرار دادن امکانات لازم جهت انجام این پژوهش و نیز از ایستگاه تحقیقات زیتون رودبار، برای مساعدت بی دریغشان در زمینه انجام این تحقیق، تشکر و قدردانی می شود.

۵- منابع

- [2] Alfonso, M.B., Owen, J., 2002. Alternative methods for controlling the olive fly, *Bactrocera oleae*, involving semiochemicals. Use of pheromones and other semi chemicals in integrated production. IOBC wprs Bulletin 25.
- [3] Al-Maaitah, M.I., K.M. Al-Absi and A. Al-Rawashdeh. 2009. Oil quality and quantity of three olive cultivars as influenced by harvesting date in the middle and southern parts of Jordan. *International Journal of Agriculture & Biology* 11: 266-272.
- [4] Baiano, B., C. Terracone, I. Viggiani and M.A. Del Nobile. 2013. Effects of cultivars and location on quality, phenolic content and antioxidant activity of extra-virgin olive oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 90:103-111
- [5] Beltran, G., M.P. Aguilera, C. Del Rio, S. Sanchez and L. Martinez. 2005. Influence of fruit ripening process on the natural antioxidant content of Hojiblanca virgin olive oils. *Food Chemistry*. 89: 207-215.
- [6] Brenes, M., L. Rejano, P. Garcia, A.H. Sánchez and A. Garrido. 1995. Biochemical changes in phenolic compounds during Spanish-style green olive processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 43: 2702-2706.
- [7] Caponio, F., V. Alloggio, T. Gomes. 1999. Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 64: 203-209.
- [8] Commission Regulation (EC). 2002. Regulation EEC 1019/2002 on marketing
- [1] Alavi Rafiee, S., R. Farhoosh and M.H. Haddad Khodaparast. 2012. Physicochemical properties of Iranian commercial olive oils. *Journal of Nutrition Sciences & Food Technology*. 7: 85-94. (In Persian).

- [18] Lavee, S. 1996. Biology and physiology of the olive. *Journal of Horticultural Science*. 66: 620–648
- [19] Mailer, R.J. 2006. The natural chemistry of Australian extra virgin olive oil. A report prepared for the Rural Industries Research and Development Corporation, Canberra. Rirdc Publication no: 06-132.
- [20]. Malheiro R., A. Sousa, S. Casal b, A. Bento and J. A. Pereira. 2011. Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 450–457.
- [21]. Marsilio, V., C. Campestre and B. Lanza. 2001. Phenolic compounds change during California-style ripe olive processing. *Food Chemistry*. 74: 55–60.
- [22]. Minguéz-Mosquera, M. L., L. Rejano, B. Gandul, A.H. Sanchez, and J. Garrido. 1991. Colour-pigment correlation in virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 68: 322-337.
- [23]. [24]. Mraicha, F., M. Ksantini, O. Zouch, M. Ayadi, S. Sayadi and Mohamed Bouaziz. 2010. Effect of olive fruit fly infestation on the quality of olive oil from Chemlali cultivar during ripening. *Food and Chemical Toxicology* 48: 3235–3241
- [24]. Owen, R.W., W. Mier, A. Giacosa, W.E. Hull, B. Spiegelhalder, H. Bartsch. 2000. Phenolic compound and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Journal of Food Chemistry and Toxicology*. 38: 647–659.
- [25]. Perrin, J.L., 1992. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et de son huile. . *Revue Française Des Corps Gras*. 39: 25–32.
- [26]. Roca, M., M.I. Minguéz-Mosquera. 2001. Change in the natural ratio between chlorophylls and carotenoids in olive fruit during processing for virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 78 (2): 133–138.
- [27]. Roca, M and M. I. Minguéz-Mosquera. 2003. Involvement of chlorophyllase in chlorophyll metabolism in olive varieties with high and low chlorophyll content. *Physiologia Plantarum*. 117: 459-466.
- standards for olive oil. *Official Journal of European Communities*. L155/27.
- [9] Dag, A ., Z. Kerem, N. Yogev, I. Zipori, Sh. Lavee and E. Ben-David. 2011. Influence of time of harvest and maturity index on olive oil yield and quality. *Scientia Horticulturae*. 127: 358–366.
- [10] Du. G., M. Li, F. Ma and D. Liang. 2009. Antioxidant capacity and the relationship with polyphenol and Vitamin C in Actinidia fruits. *Food Chemistry*. 113: 557–562.
- [11] Fahim Danesh, M., M. Ghavami, A.H. Hemasi and P. Abroumand. 2008. Evaluation of phenolic compounds and tocopherols content in some trade Iranian olive oil by HPLC. *Iranian Journal of Food Science and Technology*. 5(3): 53-59.
- [12] Fattahi-Moghaddam, J., Y. Hamid-Oghli, R. Fotoohi-Ghazvini, M. Ghasemnezhad and D. Bakhshi. 2011. Optimization of antioxidant capacity and fruit quality of different cultivars citrus. PhD thesis, University of Guilan. (In Persian).
- [13] Fernandez-Orozco, R., M. Roca, B. Gandul-Rojas and L. Gallardo-Guerrero. 2011. DPPH-scavenging capacity of chloroplastic pigments and phenolic compounds of olive fruits (cv. Arbequina) during ripening. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24: 858–864.
- [14] Galli, C. and F. Visioli. 1999. Antioxidant and the activities of phenolics in olive / olive oil, typical components of Mediterranean diet. *Lipids*. 34: 523-526.
- [15] Hashempour, A., R. Fotouhi Ghazvini, D. Bakhshi, S. Asadi Sanam. 1389. The effect of kazeroon climates on olive oil quality indicators (*Olea europaea* L.) of zard, rowghani and mari cultivars. *Iranian Journal of Horticultural Sciences*. 41 (1): 47-53. (In Persian)
- [16] Jamalizadeh S. 2006. Determination of harvesting time effect on quality and quantity of olive oil. Master's thesis, Faculty of Agriculture, University of Guilan (In Persian).
- [17] Kalt, W., C.F. Forney, A. Martin and R. Perior. 1999. Antioxidant capacity, vitamin C, Phenolics and anthocyanin after fresh storage of small fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47: 4638 – 4644.

- fruit. Postharvest Biology and Technology. 49: 201–209
- [32]. Singleton, V.L., J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. The American Journal of Ecology and Viticulture 16: 144–158.
- [33]. Skevin, D., D. Rade, D. Strucelj, Z. Mokrovcak, S. Nederal and D. Bencic. 2003. The influence of variety and harvest time on the bitterness and phenolic compounds of olive oil. European Journal of Lipid Sciences and Technology, 105, 536–541.
- [34]. Tura, D., C. Gigliotti, S. Pedo, O. Failla, D. Bassi and A. Serraiocco. 2007. Influence of cultivar and site of cultivation on levels of lipophilic and hydrophilic antioxidants in virgin olive oils (*Olea europea* L.) and correlations with oxidative stability. Scientia Horticulturae. 112: 108-19.
- [28]. Salvador, M.D., F. Aranda, G. Fregapane. 2001. Influence of fruit ripening on Cornicabra virgin olive oil quality. A study of four successive crop seasons. Food Chemistry. 73: 45–53.
- [29] Santesteban, L.G. and J.B. Royo. 2006. Water status, leaf area and fruit load influence on berry weight and sugar accumulation of cv. Tempranillo under semiarid conditions. Scientia Horticulture. 109: 50-56.
- [30]. Shibasaki, H. 2005. Influence of fruit ripening on chemical properties of "mission" variety olive oil in japan. Food Science and Technology Research. 11 (1): 9-12
- [31]. Shin, Y., J. Ryu, R.H. Liu, J.F. Nock and C.B. Watkins. 2008. Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry

Effect of fruit harvest time on antioxidant compounds of oil in some olive (*Olea europaea* L.) cultivars at Roodbar region

Rostami- Ozumchuluei, S.^{1*}, Mahmood Ghasemnezhad², Mohammad Ramzani-Malekroudi³

1. Graduated MSc Student, Department of Horticultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

2. Associate Professor, Department of Horticultural Science, University of Guilan, Rasht, Iran.

3. Assistant Professor, Agricultural Research Institute, Guilan, Iran.

(Received: 93/4/23 Accepted: 93/8/7)

One of the main effective factors on olive oil quality is harvesting fruit at proper time. In this study, the effect of fruit harvesting time on oil antioxidant compounds of four olive cultivars, Zard, Rowghani, Arbequina and Coratina was investigated at Roodbar region, Guilan province. Therefore, the characteristics such as total chlorophyll, total carotenoid, total phenol, total flavonoid, antioxidant capacity, IC_{50} and anti-radical efficiency (AE) were determined in the oil. The results showed that with delaying in harvest time, antioxidant compounds of olive oil such as total chlorophyll and carotenoid, total phenolic and flavonoid decreased, that followed by declining oil antioxidant capacity and AE and, but increasing IC_{50} . The results also showed that there was a positive significant correlation between olive oil total antioxidant activity with AE (+0.919), total chlorophyll (+0.562), total carotenoid (+0.562), total phenolic (+0.86) and flavonoid (+0.868) and a negative correlation with IC_{50} (-0.87). Overall, the highest antioxidant compounds were found when Zard, Rowghani and Arbequina cultivars fruits were harvested from 7 October to 18 October and 18 October to 1 November for Coratina cultivars. Furthermore, delaying in fruit harvest time could increase olive oil content but declined oil antioxidant compounds and its nutritional value.

Key words: Antioxidant activity, Harvesting date, Olive oil.

* Corresponding Author E-Mail Address: s_rostami_1988@yahoo.com