



اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون در پایداری کره

المیرا کرامتجو^۱، جواد حصاری^{۲*}، صدیف آزادمرد دمیرچی^۱، سیدهادی پیغمبر دوست^۲
و محبوب نعمتی^۳

^۱ دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد بین‌المللی دانشگاه تبریز، ^۲دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ^۳استاد، گروه فارماکوتونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز
تاریخ دریافت: ۹۱/۱۱/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۲/۰۴/۳

چکیده

در این پژوهش اثر افزودن عصاره برگ زیتون به عنوان منبع غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی روی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی، حسی، بافتی و میکروبی کره مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور عصاره برگ زیتون به طور جداگانه در غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۵ درصد به کره اضافه گردید و نمونه‌های آماده شده بعد از بسته بندی تحت خلا به مدت ۹۰ روز در یخچال نگهداری شدند. عدد اسیدی، عدد پروکسید، میزان ترکیبات پلی‌فنولی کل، ویژگی‌های میکروبی، آزمون جذب رادیکال آزاد DPPH (شدت فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها)، سفتی نمونه‌ها، پایداری اکسیداسیونی و ویژگی‌های حسی نمونه‌ها شامل ویژگی‌های عطر و طعمی، بافتی و ظاهری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که نمونه‌های حاوی عصاره برگ زیتون در مقایسه با نمونه کنترل عدد اسیدی، عدد پروکسید، سفتی و شمارش میکروبی کمتر و پایداری اکسیداسیونی و میزان ترکیبات پلی‌فنولی بیشتری داشتند. در طول نگهداری، عدد اسیدی نمونه‌ها افزایش، عدد پروکسید و میزان ترکیبات پلی‌فنولی کاهش یافت. کاهش سفتی نمونه‌های حاوی عصاره برگ زیتون در مقایسه با نمونه کنترل بیشتر بود. فعالیت ضد میکروبی نمونه ۰/۱ درصد برگ زیتون بیشتر از سایر تیمارها بود. نتایج آزمون جذب رادیکال DPPH نشان داد که قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون کمتر از کوئرستین می‌باشد بررسی ویژگی‌های حسی نیز نشان داد که با افزایش درصد عصاره‌ها، مقبولیت کلی نمونه‌ها کاهش یافت.

واژه‌های کلیدی: عصاره برگ زیتون، کره، آنتی‌اکسیدان

*مسئول مکاتبه: jhesari@tabrizu.ac.ir

مقدمه

امروزه اعتقاد بر این است که استرس اکسیداتیو یا عدم تعادل بین آنتی اکسیدان‌ها و پرواکسیدان‌ها در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها و عوارض آنها مانند بیماری‌های قلبی، اختلالات اعصاب، دیابت و... دخالت دارد (نیستانی و فروغی، ۲۰۰۶).

کره از جمله مواد غذایی است که در طول نگهداری و فرآوری در اثر عوامل طبیعی از جمله هوا، نور و دما در آن اکسیداسیون اتفاق می‌افتد که مهم‌ترین عامل فساد و کاهش ماندگاری کره محسوب می‌شود. از این رو سالم‌سازی و پایداری کره از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. روز به روز گرایش به استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی به‌عنوان جایگزین آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی ب‌دلیل سمی بودن آنها افزایش یافته است. قویترین آنتی‌اکسیدان سنتتیک (TBHQ) در کانادا و اروپا اجازه مصرف ندارد و BHA نیز از لیست ترکیبات GRAS حذف شده است (هایس و همکاران، ۲۰۱۰).

زیتون درختی است که در طب سنتی به‌عنوان عامل محافظت‌کننده کبدی و آنتی‌اکسیدان استفاده می‌شود. مصرف روزانه زیتون از امراض قلبی و سرطان جلوگیری می‌کند. برگ زیتون در درمان بیماری‌های قلبی و کاهش فشار خون به‌کار می‌رود. عصاره برگ زیتون همانند سایر بخش‌های زیتون حاوی ترکیبات پلی‌فنولی می‌باشد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی از خود نشان می‌دهد. فعالیت ضد HIV نیز در عصاره برگ زیتون دیده شده است. عصاره برگ زیتون به‌دلیل دارا بودن ترکیبات پلی‌فنولی اعم از اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول، ورباسکوزید، آپی‌گنین به‌عنوان منبع غنی آنتی‌اکسیدانی می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد (استاندارد ملی ایران، ۲۰۰۸).

هایس و همکاران (۲۰۱۰) تاثیر لوتئین، سزامول، گالیک‌اسید و عصاره برگ زیتون را بر اکسیداسیون لیپیدهای گوشت، رنگ، اکسیداسیون اکسی‌میوگلوبین و قدرت نگهداری آب در گوشت گاو خام را مورد بررسی قرار دادند. نتیجه این که لوتئین، گالیک‌اسید و عصاره برگ زیتون میزان اکسیداسیون لیپیدها را کاهش دادند. همچنین لوتئین و عصاره برگ زیتون میزان اکسیداسیون اکسی‌میوگلوبین را کاهش داده ولی سزامول سبب افزایش اکسیداسیون اکسی‌میوگلوبین‌ها شده بود.

لی و شیباموتو (۲۰۰۲) فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی ترکیبات پلی‌فنولی حاصل از برگ زیتون (اولئوروپین، روتین، وانیلین و کافئیک‌اسید) را به‌صورت جداگانه و ترکیبی مورد بررسی قرار دادند. از بین ترکیبات پلی‌فنولی، کافئیک‌اسید فعال‌ترین و وانیلین بی‌اثرترین ماده آنتی‌اکسیدانی بوده است.

اولئوروپین بیشتر از سایر ترکیبات از رشد اشرشیاکلی، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس جلوگیری کرده ولی اثری بر روی استافیلوکوکوس اورئوس نداشته است. فاراگ و همکاران (۲۰۰۳) فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون و میوه زیتون را در پایداری روغن آفتاب‌گردان بررسی کردند. نتایج نشان داد که هر دو عصاره غنی از ترکیبات فنلی بوده و در سطح ۴۰۰ ppm سبب افزایش پایداری اکسیداسیونی روغن آفتاب‌گردان شده‌اند.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه: کره مورد استفاده به‌صورت بسته‌بندی‌های ۱۰۰ گرمی از شرکت شکلی (ایران) خریداری شد. برگ زیتون از شرکت یشیل درمان خریداری و در آزمایشگاه مرکزی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی تبریز عصاره‌گیری شد.

استخراج عصاره برگ زیتون: برگ‌های گیاه برگ زیتون توسط آسیاب مکانیکی به پودر تبدیل شدند. پودر خشک همراه با اتانل ۶۰ درصد (حلال) در دستگاه سوکسله به‌مدت ۱۰ ساعت قرار داده شد، پس از صاف کردن مایع سبز رنگ تیره حاصل، فاز الکلی (حلال) توسط دستگاه خشک‌کن تحت خلا از عصاره جدا شده و پس از آن جهت حذف فاز چربی و رنگدانه‌ها به قیف دکانتول اضافه شدند، ۱۰ دقیقه بعد فاز هگزانی جدا شده و عصاره در دستگاه خشک‌کن تحت خلا خشک گردید.

روش تهیه نمونه‌ها: عصاره برگ زیتون در سطوح ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ درصد به کره نرم شده اضافه و مخلوط شدند. نمونه‌های تیمار شده با عصاره‌ها و نمونه‌های کنترل در ظرف‌های ۱۰۰ گرمی پر شده و به‌وسیله دستگاه دربندی تحت خلا بسته‌بندی و در یخچال نگهداری شدند. نمونه‌برداری از هر تیمار آزمایشی در روزهای ۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ نگهداری به‌منظور انجام آزمایش‌های مربوطه صورت گرفت.

آزمایش‌های شیمیایی، فیزیکی، میکروبی و حسی: آزمایش‌های عدد اسیدی، عدد پروکسید، میزان ترکیبات پلی فنولی و آزمون‌های میکروبی از روز تولید به‌مدت ۳ ماه هر ۳۰ روز یک بار، سفتی بافت نمونه‌ها در روز ۹۰، پایداری اکسیداسیونی، آزمون حسی و تعیین قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره در روز اول تولید اندازه‌گیری شد.

عدد اسیدی: برای اندازه گیری اسیدیته ۲۰ گرم کره در ۱۰۰ میلی لیتر محلول هم حجم و خنثی شده اتانول، کلروفرم حل شد. این محلول در حضور فنل فتالین تا ظاهر شدن رنگ ارغوانی پایدار با هیدروکسید پتاسیم ۰/۱ نرمال تیترا شد (نیستانی و فروغی، ۲۰۰۶).

عدد پراکسید: برای اندازه گیری عدد پراکسید ۵ گرم روغن در ۳۰ میلی لیتر محلول اسیداستیک-کلروفرم (۳:۲) حل شد و ۰/۵ میلی لیتر محلول اشباع شده یدید پتاسیم به آن افزوده شد و به مدت یک دقیقه در تاریکی قرار گرفت. بعد از این مدت ۳۰ میلی لیتر آب و ۰/۵ میلی لیتر محلول ۱ درصد نشاسته به آن اضافه گردید. ید آزاد شده تا بی رنگ شدن با تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال تیترا شد (نیستانی و فروغی، ۲۰۰۶).

پایداری در برابر اکسیداسیون: زمان پایداری با استفاده از رنسیمت مدل Metrohm برای ۲/۵ گرم کره و در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد اندازه گیری گردید (تابی و همکاران، ۲۰۰۸).

اندازه گیری ترکیبات فنولی: اندازه گیری ترکیبات فنولی بر اساس روش کاپانسی و همکاران (۲۰۰۰) اندازه گیری شد.

آزمون جذب رادیکال DPPH (تعیین شدت فعالیت آنتی اکسیدانی): تعیین شدت فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره برگ زیتون توسط روش ناظمیه و همکاران (۲۰۱۱) اندازه گیری شد.

آزمون های میکروبی: در این پژوهش آزمون میکروبی نمونه ها از روش ارابه شده توسط استاندارد ملی ایران (استاندارد ملی ایران، ۲۰۰۸) استفاده شده است.

آنالیز بافتی: سفتی به عنوان حداکثر مقاومت در مقابل تغییر شکل به میزان ۴۰ درصد فشردگی در بافت در نظر گرفته شد. به این منظور میزان سفتی نمونه های کره با استفاده از ماشین آزمون عمومی (اینستران) مدل ۱۱۴۰ با اصلاح روش پیشنهاد شده توسط گنزالز و همکاران (۲۰۰۳) اندازه گیری شد.

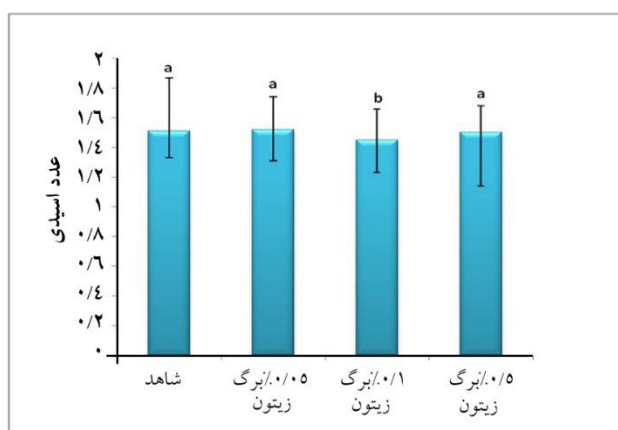
ارزیابی حسی

آنالیز توصیفی: به هر ارزیاب به طور تصادفی ۳ نمونه داده شد و در نهایت هر نمونه ۶ بار مورد ارزیابی قرار گرفت. ارزیاب ها نمونه های مربوط به روز اول آماده سازی را از نظر ویژگی های عطر و طعمی، بافتی و ظاهری مورد بررسی قرار دادند

تست هدونیک: در این آزمون عدد ۷ نشان دهنده بیشترین مقبولیت (عالی) و عدد ۱ نشان دهنده کمترین مقبولیت (خیلی بد) بود.

نتایج و بحث

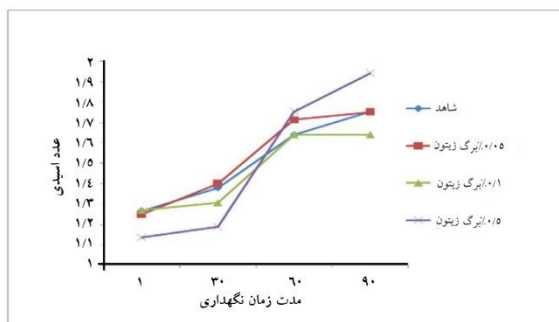
عدد اسیدی: در شکل ۱ اثر نوع تیمار بر عدد اسیدی کره نشان داده شده است. در تیمارهای حاوی عصاره برگ زیتون فقط عدد اسیدی تیمار ۰/۱ درصد به طور معنی داری ($P < 0/001$) کمتر از نمونه کنترل است.



شکل ۲- تغییرات عدد اسیدی تیمارها

جدول ۱ نتایج مقایسه میانگین داده‌ها و شکل ۲ روند تغییرات عدد اسیدی نمونه‌های مختلف را در طول زمان نگهداری نشان می‌دهد. با گذشت زمان عدد اسیدی نمونه‌ها افزایش یافت. با گذشت زمان تنها نمونه حاوی ۰/۱ درصد عصاره برگ زیتون نسبت به سایر نمونه‌ها و نمونه شاهد افزایش کمتری را در عدد اسیدی نشان داد. با گذشت زمان در تمامی نمونه‌ها هیدرولیز صورت گرفته و عدد اسیدی افزایش یافته است.

اوزکان و همکاران (۲۰۰۷) نیز آنتی‌اکسیدان حاصل از عصاره گیاه *Satureja Cilicica* را در مقادیر ۰/۵، ۱ و ۲ درصد به کره اضافه کردند. در همه نمونه‌ها با گذشت زمان اسیدیته افزایش پیدا کرد؛ اما نمونه‌های دارای آنتی‌اکسیدان در مقایسه با نمونه کنترل عدد اسیدی کمتری داشتند به طوری که نمونه کنترل بیشترین مقدار اسیدیته و نمونه ۲ درصد کمترین مقدار را به خود اختصاص داد.

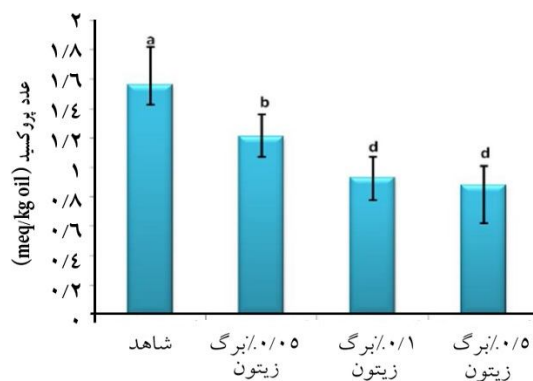


شکل ۲- اثر متقابل نوع تیمار و روز نگهداری بر عدد اسیدی نمونه‌ها.

جدول ۱- مقایسه میانگین داده‌های عدد اسیدی.

روز	تیمار	تیمار	تیمار	تیمار
	0.05 درصد برگ زیتون	0.1 درصد برگ زیتون	0.05 درصد برگ زیتون	کره شاهد
1	1.13 ± 0.02 ^m	1.27 ± 0.03 ^{ijklm}	1.25 ± 0.03 ^{ijklm}	1.26 ± 0.08 ^{ijklm}
30	1.19 ± 0.03 ^{lm}	1.30 ± 0.02 ^{hijkl}	1.40 ± 0.01 ^{ghij}	1.38 ± 0.03 ^{Fghij}
60	1.75 ± 0.06 ^b	1.64 ± 0.03 ^{bcd}	1.71 ± 0.02 ^b	1.64 ± 0.08 ^{bcd}
90	1.94 ± 0.03 ^a	1.64 ± 0.01 ^{bcde}	1.75 ± 0.03 ^b	1.75 ± 0.08 ^b

عدد پروکسید: شکل ۳ عدد پروکسید مربوط به تیمارهای مختلف کره را نشان می‌دهد. مطابق شکل نمونه کنترل به صورت معنی داری ($P < 0.001$) بیشترین عدد پروکسید را در مقایسه با نمونه‌های حاوی عصاره داشته است. از طرفی با افزایش درصد عصاره برگ زیتون عدد پروکسید به ترتیب از ۱/۵۶ به و ۰/۸۸ کاهش یافته است.

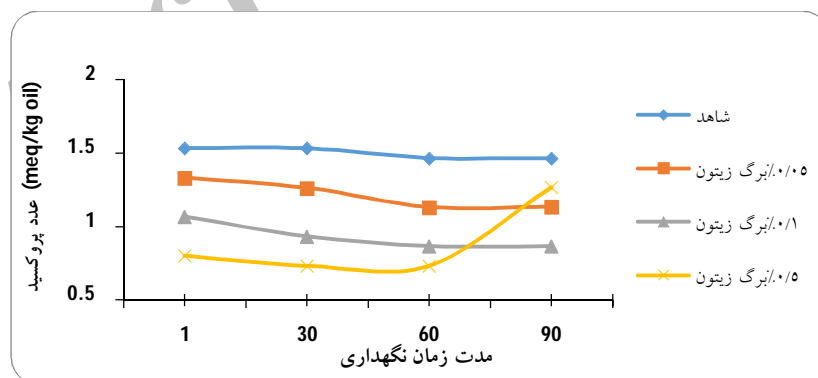


شکل ۳- تغییرات عدد پروکسید تیمارهای مختلف کره

نتایج مقایسه میانگین داده‌های مربوط به عدد پروکسید برای نمونه‌های مختلف کره در طی روزهای نگهداری در جدول ۲ و شکل ۴ نشان داده شده است. ابتدا عدد پروکسید برای تمام نمونه‌ها بیشتر بوده و با گذشت زمان به دلیل تبدیل شدن ترکیبات اولیه اکسیداسیون به ترکیبات ثانویه، عدد پروکسید کاهش یافته است. در میان نمونه‌های حاوی عصاره نیز، با افزایش درصد عصاره عدد پروکسید کاهش یافت. از روز ۶۰ به بعد، ترکیبات پلی فنولی نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ زیتون اکسید شده و به طور ناگهانی سبب افزایش عدد پروکسید شده اند. علت عدد پروکسید بالا در نمونه‌های کره شاهد را می توان به حضور عوامل پروکسیدان مانند مس و برخی از آنزیم‌ها نسبت داد (کاپانسی و همکاران، ۲۰۰۰). عصاره برگ زیتون به دلیل دارا بودن ترکیبات پلی فنلی اعم از اولئوروپین، هیدروکسی تیروزول، وریباسکوزید، آپی گنین به عنوان منبع غنی آنتی اکسیدانی، مانع پیشرفت اکسیداسیون در نمونه‌ها شده است (استاندارد ملی ایران، ۲۰۰۸).

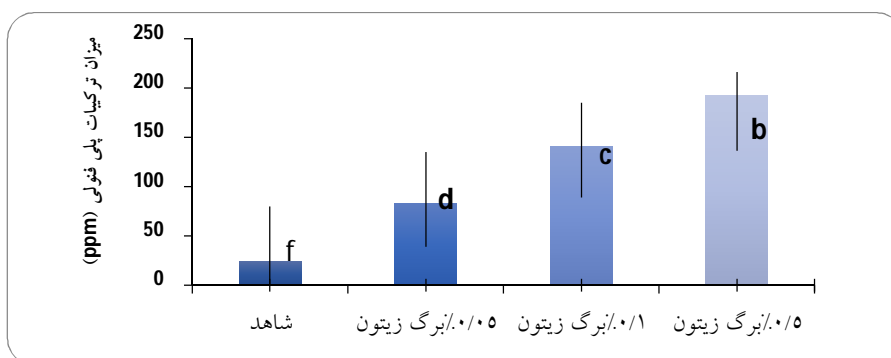
جدول ۲- میانگین داده‌های عدد پروکسید برای ۴ نوع کره و ۴ زمان نگهداری (۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰).

روز	کره شاهد	۰/۰۵ درصد برگ زیتون	۰/۱ درصد برگ زیتون	۰/۵ درصد برگ زیتون
۱	۱/۵۳ ± ۰/۱۱ ^{ab}	۱/۱۳ ± ۰/۲۳ ^{cdef}	۱/۰۶ ± ۰/۱۱ ^{defg}	۰/۸۰ ± ۰/۲۰ ^{fgh}
۳۰	۱/۵۳ ± ۰/۱۱ ^{ab}	۱/۲۶ ± ۰/۱۱ ^{bcde}	۰/۹۳ ± ۰/۱۱ ^{efgh}	۰/۷۳ ± ۰/۲ ^{gh}
۶۰	۱/۴۶ ± ۰/۱۱ ^{abc}	۱/۱۳ ± ۰/۱۱ ^{cdef}	۰/۸۶ ± ۰/۱۱ ^{fgh}	۰/۷۳ ± ۰/۲ ^{gh}
۹۰	۱/۴۶ ± ۰/۱۱ ^{abc}	۰/۱۱ ± ۱/۱۳	۰/۸۶ ± ۰/۱۱ ^{fgh}	۱/۲۶ ± ۰/۱۱ ^{bcde}



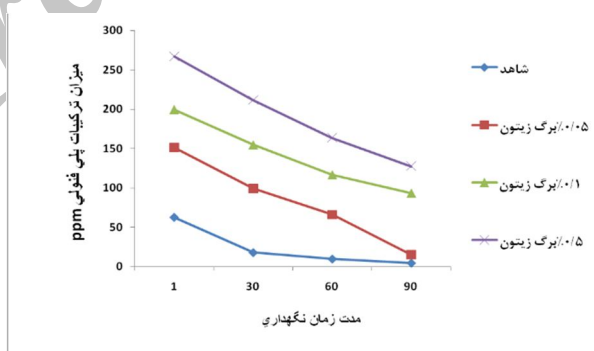
شکل ۴- اثر متقابل نوع تیمار و زمان نگهداری بر عدد پروکسید کره.

میزان ترکیبات پلی فنولی: شکل ۵ میزان ترکیبات پلی فنولی مربوط به تیمارهای مختلف کره را نشان می دهد. بیشترین میزان ترکیبات پلی فنولی مربوط به تیمار ۰/۵ درصد برگ زیتون (۱۹۲/۶۲ ppm) و کمترین مربوط به نمونه کنترل (۲۳/۸۲ ppm) است. با افزایش درصد عصاره برگ زیتون میزان این ترکیبات از ۸۳/۱ به ۱۹۲/۶۲ ppm افزایش یافته است.



شکل ۵- تغییرات میزان ترکیبات پلی فنولی تیمارهای مختلف کره.

نتایج مقایسه میانگین داده های مربوط به میزان ترکیبات پلی فنولی برای نمونه های مختلف کره در طی روزهای نگهداری شده در جدول ۳ و شکل ۶ نشان داده شده است. با گذشت زمان نگهداری میزان ترکیبات پلی فنولی در تمامی نمونه ها کاهش یافته است. کاهش ترکیبات پلی فنولی به دلیل اکسیداسیون این ترکیبات با گذشت زمان رخ می دهد. کره کنترل در هنگام اندازه گیری مقدار کمی جذب داشت که احتمالاً این جذب به علت وجود کاروتنوئیدهای طبیعی موجود در کره است.

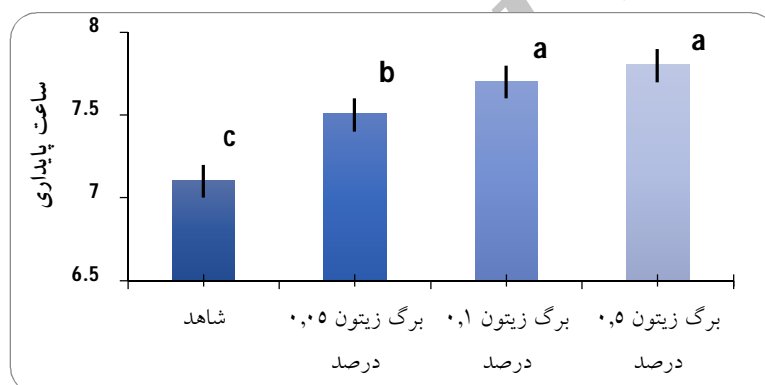


شکل ۶- اثر متقابل تیمار و زمان نگهداری بر میزان ترکیبات پلی فنولی کل

جدول ۳- میانگین داده‌های ترکیبات پلی فنولی برای ۴ نوع کره و ۴ زمان نگهداری (۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰).

تیمار				
روز	کره شاهد	۰/۰۵ درصد برگ زیتون	۰/۱ درصد برگ زیتون	۰/۵ درصد برگ زیتون
۱	۲/۲۰±۶۲/۵۳ ^{klm}	۲/۴۳±۱۵۱/۶۰ ^{efgh}	۲/۸۸±۱۹۹/۶۰ ^{bcd}	۱۲/۵۷±۲۶۷/۲۰ ^a
۳۰	۱/۸۳±۱۸ ^{mn}	۰/۶۰±۹۹/۶۰ ^{ijk}	۱۶/۵۳±۱۵۴/۷۶ ^{defgh}	۶/۹۸±۲۱۱/۸۳ ^{abc}
۶۰	۰/۳۰±۹/۹۳ ⁿ	۱۰/۰۲±۶۷/۰۳ ^{kl}	۲۵/۹۶±۱۱۶/۶۶ ^{hij}	۱۸/۴۱±۱۶۳/۹۲ ^{defg}
۹۰	۰/۴۱±۴/۸۳ ⁿ	۷/۴۳±۱۵/۱۴ ⁿ	۴/۳۰±۹۳/۲۹ ^{ijk}	۱۸/۸۹±۱۲۷/۵۳ ^{fghi}

پایداری اکسیداتیو: نتایج بدست آمده در این مطالعه نشان داد تیمار کره با عصاره برگ زیتون به طور معنی داری ($P < 0.05$) باعث افزایش پایداری اکسیداسیونی آن شد. بیشترین پایداری مربوط به تیمار ۰/۵ درصد برگ زیتون بود (شکل ۷).



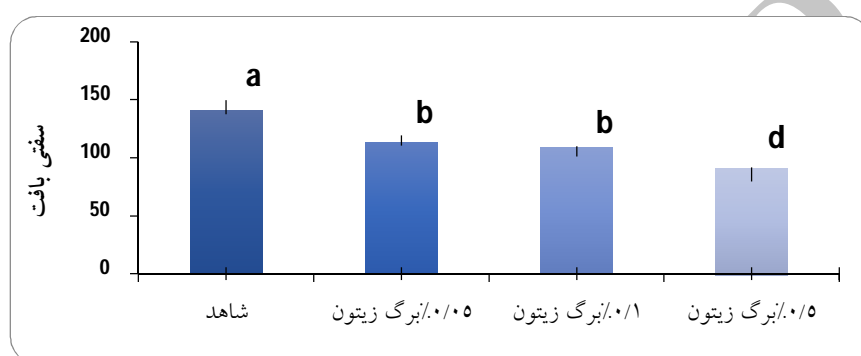
شکل ۷- زمان پایداری نمونه‌های کره

آزمون جذب رادیکال DPPH: قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون کمتر از قدرت آنتی‌اکسیدانی (RC50) کوئرستین بود. نتایج در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۴- مقایسه قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون با کوئرستین

ترکیبات / عصاره	RC50 (میلی گرم بر میلی لیتر)
کوئرستین	$2/88 \times 10^{-5}$
عصاره برگ زیتون	4×10^{-3}

آنالیز بافت: شکل ۸ نشان می‌دهد که اثر تیمار بر روی سفتی بافت معنی‌دار ($P < 0/05$) بوده است. با افزایش درصد عصاره برگ زیتون سفتی بافت نمونه‌ها نسبت به نمونه کنترل کاهش یافت. سفتی بافت تیمار ۰/۵ درصد عصاره برگ زیتون کمتر از سایر نمونه‌ها بوده و تفاوت معنی‌داری ($P < 0/01$) با نمونه کنترل داشت. در توجیه این امر می‌توان گفت که در اثر مخلوط کردن کره با عصاره برگ زیتون و هم زدن آنها و احتمالاً به دلیل وجود برخی ترکیبات مانند موم‌ها در عصاره‌ها بافت کره نرم شده است.



شکل ۸- تغییرات سفتی بافت نمونه‌های مختلف کره

آزمون میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم‌های سرماگرا: در تمام نمونه‌ها با گذشت زمان شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا افزایش یافته است (جدول ۵). در تیمار ۰/۱ درصد برگ زیتون بعد از روز ۶۰ تعداد میکروارگانیسم‌های سرماگرا ثابت مانده است. این نشان می‌دهد که ترکیبات پلی‌فنلی موجود در عصاره برگ زیتون از رشد میکروارگانیسم‌های سرماگرا جلوگیری کرده‌اند در حالی که در سایر تیمارها شمارش کلی تا روز ۹۰ افزایش یافته است.

جدول ۵- شمارش میکروارگانیسم‌های سرماگرا برای ۴ نوع کره و ۴ زمان نگهداری (۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰).

روز	تیمار			کره شاهد
	۰/۵	۰/۱	۰/۰۵	
	درصد برگ زیتون	درصد برگ زیتون	درصد برگ زیتون	
۱	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
۳۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰
۶۰	۴۰۰۰۰	۱۰۰۰	۱۰۰۰۰	۱۰۰۰۰
۹۰	۶۰۰۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰۰۰	۸۰۰۰۰

شناسایی و شمارش کپک و مخمر: با گذشت زمان همانند میکروبهای سرماگرا تعداد کپک و مخمر در نمونه کنترل و نمونه‌های حاوی عصاره افزایش یافته است (جدول ۶). تعداد کپک و مخمر به جز تیمار ۰/۱ درصد برگ زیتون در سایر نمونه‌ها به سرعت افزایش یافته است. پس از روز ۶۰ ظهور لکه‌های بی‌رنگ در نمونه حاوی ۰/۵ درصد برگ زیتون به دلیل فعالیت کپک‌ها و مخمرها به خصوص ترولا اتفاق افتاده است. می‌توان گفت در درصدهای پایین عصاره برگ زیتون، میزان مواد پلی‌فنلی (ضد میکروبی) کم بود و توانایی متوقف کردن رشد میکروبه‌ها را نداشته است. اما در مورد ۰/۵ درصد برگ زیتون به دلیل بیشتر بودن فعالیت آبی عصاره‌ها و وجود بیشتر قندها، میکروبه‌ها به راحتی تغذیه و رشد کرده که شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها حتی بیشتر از نمونه کنترل بوده است.

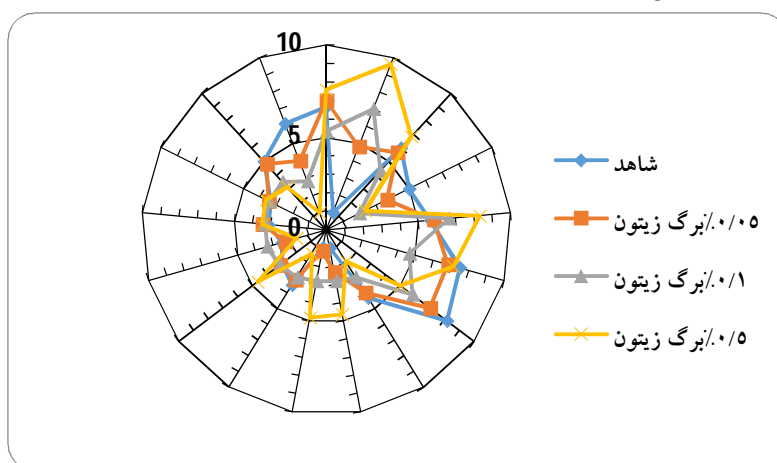
جدول ۶- شمارش کپک و مخمر برای ۴ نوع کره و ۴ زمان نگهداری (۱، ۳۰، ۶۰ و ۹۰).

تیمار				
روز	کره شاهد	۰/۰۵ درصد برگ زیتون	۰/۱ درصد برگ زیتون	۰/۵ درصد برگ زیتون
۱	کمتر از ده	۱۰	کمتر از ده	کمتر از ده
۳۰	کمتر از ده	۱۰۰	کمتر از ده	۱۰
۶۰	۱۰	۱۰۰	۱۰	۴۰
۹۰	۲۰۰	۱۰۰۰	۷۰	۲۰۰

شمارش کلی فرم‌ها: نتایج نشان داد که در تمام نمونه‌ها با گذشت زمان آلودگی کلی فرم منفی بوده است. عمدتاً حضور کلی فرم‌ها در مواد غذایی به دلیل آلودگی مدفوعی می‌باشد، به دلیل رعایت شرایط بهداشتی در طول نگهداری نمونه‌ها، آلودگی کلی فرم منفی بوده است.

سود جانا و همکاران (۲۰۰۹) نشان دادند که فعالیت ضد میکروبی عصاره برگ زیتون آن در برابر استافیلوکوکوس اورئوس، هلیکوباکتر پی لوری و کمپیلوباکتر ججونی بیشتر بوده است. ارزیابی حسی: با افزایش درصد عصاره در نمونه‌ها، ارزیاب‌ها نیز طعم عصاره بیشتری را تشخیص دادند. نمونه‌های حاوی عصاره از مانند سایر ویژگی‌های عطر و طعمی نظیر طعم اسیدی، رنسید، ماهی، اکسیدشدگی، تلخی و ماندگی اختلاف معنی‌دار ($P < 0/05$) با نمونه کنترل دارند. بیشترین طعم اسیدی عصاره، رنسید و

تلخی مربوط به تیمار ۰/۵ درصد برگ زیتون بوده است. با افزایش درصد عصاره رنگ غیر طبیعی، سفتی و مقبولیت کلی به طور معنی دار ($P < 0/05$) کاهش یافته است.



شکل ۹- مقایسه ویژگی‌های حسی نمونه‌های حاوی عصاره با نمونه کنترل

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزودن عصاره برگ زیتون در سطح ۰/۱ درصد نسبت به سطوح ۰/۰۵ و ۰/۵ درصد به کره سبب افزایش پایداری اکسیداتیو آن می‌شود. با افزایش درصد عصاره برگ زیتون عدد اسیدی، عدد پروکسید و میزان سفتی بافت کره‌ها کاهش و میزان ترکیبات فنولی نمونه‌ها و پایداری اکسیداتیو افزایش یافت. در نمونه حاوی ۰/۱ درصد عصاره برگ زیتون افزایش باکتری‌های سرماگرا، کپک و مخمر کمتر از سایر نمونه‌ها بود. تفاوت معنی‌داری ($P < 0/05$) بین تیمارهای ۰/۱ و ۰/۵ درصد از نظر پایداری اکسیداتیو وجود نداشت. با افزایش درصد عصاره مقبولیت کلی نمونه‌ها کاهش یافت. قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ زیتون ۰/۰۰۴ بوده که کمتر از کوئرستین می‌باشد.

منابع

- Altiok, E., Baycin, D., Bayraktar, O. and Ulku, S. 2008. Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea* L.) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*, 62: 342–348.
- Association of Official Analytical Chemist's. 1999. Official Methods of Analysis of the AOAC (15th Ed.) Arlington, AOAC, USA: 10–12.

- Capannesi, C., Palchetti, I., Mascini, M. and Parenti, A. 2000. Electrochemical sensor and biosensor for polyphenols detection in olive oils. *Food Chemistry*, 71: 553–562.
- Farag, R.S., Baroty, G.S. and Basuny, M.A. 2003. The influence of phenolic extracts obtained from the olive plant on the stability of sun flower oil. *Food Science and Technology*, 38: 81–87.
- Fox, P.F. and Mcsweeney, P.L.H. 1998. Milk lipids. In: Dairy Chemistry and biochemistry. Pp, 67–145.
- Gonzalez, S., Duncan, S.E., Okeefe, S.F., Summer, S.S. and Herbein, J.H. 2003. Oxidation and textural characteristics of butter and ice cream with modified fatty acid profiles. *Journal of Dairy Science*, 86: 70–77.
- Hayes, J.E., Allen, P., Brunton, N., Ogrady, M.N. and Kerry, J.P. 2010. Phenolic composition and in vitro antioxidant capacity of four commercial phytochemical products: Olive leaf extract, Lutein, Sesamol and Ellagic acid. *Food Chemistry*, in press.
- Iranian national Standard Organisation, 2008. Microbiology of milk and milk products Specifications, No. 2406.
- Lee, K. and Shibamoto, T. 2002. Determination of Antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Food Chemistry*, 50: 4947–4952.
- Lee, O.H. and Lee, B.Y. 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in olea European leaf extract. *Bio resource Technology*, 101: 3751–3754.
- Nazemiyeh, H., Bahadori, F., Delazar, A., Ay, M., Topcu, G., Kolak, U., Nahar, L., Auzie, A.A. and Sarker, S.D. 2008. Trice tin 4-O- α -L-RHAMNOPYRANOSIDE: A new flavonoid from the aerial parts of Erica arborea. *Chemistry of Natural Compounds*, 44: 174–177.
- Neyestani, T. and Foroughi, A. 2006. Measurement of serum lycopene and β -carotene by high performance liquid chromatography. *Iranian Journal of Nutrition Sciences and Food Technology*, 3: 45-50.
- Ozkan, G., Simsek, B. and Kuleasan, H. 2007. Antioxidant activities of Satureja cilicica essential oil in butter and in vitro. *Journal of Food Engineering*, 79: 1391–1396.
- Sudjana, A., Dorazio, C., Ryan, V., Rasool, N., Ng, J., Islam, N., Riley, T. and Hammer, K. 2009. Antimicrobial activity of commercial olea European (Olive leaf) extract. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33: 461–463.
- Tabee, E., Azadmard-damirchi, S., Jagerstad, M. and Dutta, P.C. 2008. Effects of α -tocopherol on oxidative stability on phytosterol oxidation during heating on some regular and high oleic etable oils. *Journal of American Oil Chemist's Society*, 85: 857–867.

Antioxidant effect of olive leaf on stability of butter

**E. Keramatjou¹, J. Hesari^{2*}, S. Azadmard Damirchi²,
S.H. Peighambardoust² and M. Nemati³**

¹ M.Sc Graduate, Department of Food Science and Technology, University of Aras International Campus, ² Associate Prof., Dept. of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran, ³ Associate Prof., Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Abstract

In this study extract of olive leaf was added to butter samples at three concentrations, 0.05, 0.1 and 0.5% and after vacuum packaging, were kept in refrigerator for 90 days. Acid and peroxide value, microbial culture, polyphenol content of samples, Hardness, Oxidative stability, sensory characteristics of samples including flavor, textural and apparent characteristics of samples and DPPH radical scavenging assay of olive leaf extract were evaluated. Results showed that samples which contained olive leaf extract had lower microorganisms content, acid and peroxide value, hardness and also higher oxidative stability and polyphenol content than samples without extract. Acid value was increased during storage and extract enriched samples showed lower increase. Peroxide value and polyphenol content of samples were decreased during storage too. Hardness of olive leaf extract enriched samples was lower than control. The growth of microorganisms in sample which contained 0.1% olive leaf extract was lower than other samples. DPPH radical scavenging assay proved that antioxidant activity of olive leaf extract is lower than quercetin. Sensory characteristics evaluation also showed that Acceptability of samples decreased significantly with an increase in concentration of extract.

Keywords: Olive leaf extract, Butter, Antioxidant

*Corresponding author; jhesari@tabrizu.ac.ir