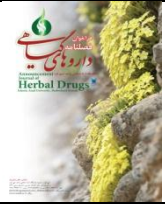




فصل نامه داروهای گیاهی

journal homepage: www.ojs.iaushk.ac.ir



اندازه گیری میزان اولئوروپین در کیک اسفنجی حاوی عصاره برگ زیتون

فریبا عطایی^{۱*}، جواد کرامت^۲، محمد حجت الاسلامی^۳، مریم میرلوحی^۴

۱. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران؛
*مسئول مکاتبات: (E-mail: faribaataei@yahoo.com)

۲. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران؛

۳. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران؛

۴. گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران؛

چکیده

مقدمه و هدف: اولئوروپین ماده اصلی برگ زیتون است که اکثر خواص فارموکولوژیک برگ زیتون مربوط به آن می باشد. هدف اصلی در این پژوهش بررسی امکان به کارگیری برگ زیتون در صنایع غذایی (صنعت کیک) و به دنبال آن استفاده از خواص دارویی آن است. روش تحقیق: در تحقیق حاضر عصاره اتانولی برگ زیتون در سطوح ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳، ۰/۴ گرم (نسبت به ۵۰ گرم آرد) به خمیر کیک اسفنجی افزوده شد و میزان اولئوروپین آن به وسیله دستگاه HPLC اندازه گیری شد، هم چنین آزمون حسی هدونیک پنج نقطه ای با حضور بیست پنلیست انجام گرفت و صفاتی مانند طعم، پس طعم، بافت، رنگ، بو و پذیرش کلی مورد ارزیابی قرار گرفت نتایج و بحث: طبق آزمون حسی انجام شده، نمونه حاوی ۰/۱ گرم عصاره، از نظر فاکتورهای طعم و پس طعم تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نداشت؛ علاوه بر آن در مورد فاکتور بافت، نمونه های حاوی ۰/۱ و ۰/۲ گرم عصاره از نظر مصرف کننده تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نداشتند. به طور کلی تنها سطح ۰/۱ گرم عصاره (به ازای ۵۰ گرم کیک) از نظر مصرف کننده قابل پذیرش بود که در آن ۰/۰۰۳ گرم اولئوروپین موجود بود. هم چنین از نظر میزان چربی، پروتئین و خاکستر اختلاف معنی داری بین تیمارها مشاهده نشد. توصیه کاربردی / صنعتی: برگ زیتون حاوی اولئوروپین به عنوان منبع غنی از مواد فنولیک با خواص دارویی فراوان می تواند در صنایع غذایی به خصوص کیک استفاده شود.

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۲/۱۱

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۲۸

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: مواد غذایی

کلید واژگان:

- ✓ اولئوروپین
- ✓ عصاره
- ✓ HPLC
- ✓ فارموکولوژیک

۱. مقدمه

استفاده دارویی از برگ زیتون اولین بار در مصر باستان کشف شده است به طوری که آن را نشانه و سمبلی از قدرت آسمانی می دانستند (Özkaya, ۲۰۱۱). اولین گزارش رسمی ساخت دارو از عصاره برگ زیتون در ارتباط با درمان تب و مالاریا در سال ۱۸۵۴ منتشر شد (Khalil et al., ۲۰۱۰).

زیتون گیاهی است متعلق به تیره اولیاسه با نام علمی *Olea europaea L*، در مناطق مدیترانه به طور خودرو رشد کرده ولی در بیشتر نقاط دنیا کشت می شود. برگ های درخت زیتون حاوی ترکیبات فنلی، ترپنی، ترکیبات محلول در چربی، کربوهیدراتها، پروتئین ها و مواد معدنی هستند.

ضدسرطان، کاهش فشارخون و کلسترول همه از جمله خواص این ماده ارزشمند است (Haloui et al., ۲۰۱۱). میزان اولئوروپین می‌تواند به بالاتر از ۱۴۰ میلی گرم بر گرم ماده خشک در زیتون-های تازه و جوان برسد این در حالی است که میزان آن در برگ معادل ۶۰-۹۰ میلی گرم در گرم ماده خشک است (Tayoub et al., ۲۰۱۲).

در مقایسه مقادیر اولئوروپین برگ های زیتون از مناطق مختلف ایران، بیشترین میزان اولئوروپین در عصاره برگ‌های درخت زیتون از نواحی شمال و جنوب ایران به دست آمده است (Ansari et al., ۲۰۱۱). در فصل بهار میزان اولئوروپین برگ‌ها در مقایسه با فصل پاییز بیشتر است (Tayoub et al., ۲۰۱۲). این در حالی است که تنها تفاوت اندکی در میزان اولئوروپین میان برگ‌های نابالغ و رشد یافته وجود دارد (Malik & Bradford, ۲۰۰۶). اولئوروپین استخراج شده بعد از فیلتراسیون و در صورت نیاز پیش تغلیظ و مشتق سازی برای تجزیه به طور متداول به ستون GC^۵ و یا HPLC^۶.HRGC^۷.DAD/MS^۸ تزیق می شود (انصاری و هم‌کاران، ۱۳۸۹).

مهدویان مهر و حدادخداپرست (۱۳۸۷) عصاره برگ های زیتون را بر خواص آنتی‌اکسیدانی روغن‌های نباتی تجاری مورد ارزیابی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که عصاره برگ زیتون باعث افزایش پایداری روغن می شود، این در حالی است که میزان ظرفیت آنتی اکسیدانی این گیاه تقریباً دو برابر برگ چای و چهار برابر بیشتر از ویتامین ث است.

تحقیق و بررسی علمی و کاربردی برگ زیتون با توجه به دسترسی آن در تمامی فصول، گسترش آن در تمامی نواحی و خواص دارویی فراوانی که به آن اشاره شد، توصیه می‌شود. در همین راستا، به منظور بررسی افزودن عصاره برگ زیتون به یک نوع کیک اسفنجی و اندازه‌گیری میزان اولئوروپین در کیک تولیدی به عنوان پژوهشی که تاکنون انجام نگرفته است مطالعه حاضر به مرحله اجرا درآمد.

برگ‌های این گیاه خاصیت ضد میکروبی (ضدباکتری، ضدقارچی و ضد ویروسی) و خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد (Keskin et al., ۲۰۱۲). هم‌چنین برگ های این گیاه ملین است که سبب بهبود تبخال، سردرد و نیروبخشی بدن (طولابی و هم‌کاران، ۱۳۹۰) و دارای خاصیت ضد التهابی و ضد آترواسکلروز است (Khalil et al., ۲۰۱۰). خاصیت ضدسرطانی و تأثیر این گیاه در درمان بیماری‌های تیروئید، مالاریا و ویروس HIV-۱ به اثبات رسیده است (Tayoub et al., ۲۰۱۲; Silva et al., ۲۰۰۶). از خواص دیگر آن می‌توان به کاهش فشار خون اشاره کرد، به طوری که یک گرم از برگ زیتون می‌تواند فشار خون سیستولیک و یا دیاستولیک را کاهش دهد (صابری و هم‌کاران، ۱۳۸۷). برگ زیتون در درمان دیابت و کاهش قند خون و تقویت سیستم ایمنی بدن موثر است (Amin et al., ۲۰۱۳; Abu-Zeitoun & Abu-albasal, ۲۰۱۳). هم‌چنین این گیاه در کاهش کلسترول خون و اسیداوریک نقش دارد (پورنورمحمدی و هم‌کاران، ۱۳۸۸). عصاره برگ زیتون سیستم های دفاع آنتی-اکسیدانی بدن مانند کاتالاز و سوپراکسی دیسموتاز را تقویت می-کند (اسماعیلی دهج و هم‌کاران، ۱۳۹۱).

ترکیباتی از جمله سکوریدها (اولئوروپین^۱) و ترکیبات فلاونوئید (آپیجین، کامیفرول و لوتئین)، ترکیبات فنولی (اسیدکافئیک، تیروزول و هیدروکسی تیروزول^۲) و ترپن‌ها (ترپنویک اسید^۳ و اولئونولیک اسید^۴) در برگ‌های زیتون وجود دارد (Ansari et al., ۲۰۱۱)؛ مهدیان مهر و حدادخداپرست، (۱۳۸۷). اولئوروپین از جمله ترکیبات تلخ اصلی با فرمول مولکولی C_{۲۵}H_{۳۳}O_{۱۳} و وزن مولکولی ۵۴۰ گرم بر مول است و از یک استر هتروسیکلیک النولیک اسید و دی هیدروکسی فنیل اتیل الکل تشکیل شده است (Briante et al., ۲۰۰۰). اولئوروپین در سال ۱۹۰۸ توسط برکلوت و وینتلیسکو شناسایی شد (جایمند و هم‌کاران، ۱۳۸۸). عمده خواص فارماکولوژیک برگ زیتون ناشی از این ترکیب می باشد (صابری و هم‌کاران، ۱۳۸۷). خواصی چون دور کنندگی حشرات، گشادکنندگی عروق، ضدالتهاب، ضد تب،

^۱-Superoxide dismutase

^۲-Oleuropein

^۳-Hydroxytyrosol

^۴-Terpenic Acids

^۵-Oleanolic acid

^۶-High Performance Liquid Chromatography

^۷-High-Resolution Gas Chromatography

^۸-Diode Array Detector/Mass Spectrometry(DAD/MS)

۲. مواد و روش ها

۲-۱. آماده سازی کیک

برای تهیه خمیر کیک، روش شکر خمیر بود به طوری که ابتدا روغن و شکر به مدت ۱۰ دقیقه به وسیله همزن برقی مخلوط می شوند سپس تخم مرغها در چهار قسمت اضافه و بعد از آن تمامی مواد پودری الک شده افزوده می شوند و در آخرین مرحله آب اضافه می شود. در هر مرحله عملیات مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. خمیر تهیه شده در قالب های ۵۰ گرمی ریخته شد و در اجاق در دمای ۱۹۰ تا ۲۳۰ سانتی گراد به مدت ۱۳ تا ۱۵ دقیقه قرار داده شد. بعد از خنک شدن، کیکها به وسیله دستگاه بسته بندی، بسته بندی شدند. فرمولاسیون کیک استفاده شده مطابق با جدول ۱ است.

جدول ۱. فرمولاسیون کیک اسفنجی

مواد مورد استفاده	درصد (بر اساس وزن آرد)
آرد	۱۰۰
روغن	۵۷
شکر	۷۲
تخم مرغ	۷۲
بیکینگ پودر	۱/۳۴
وانیل	۰/۵
پودر آب پنیر	۴
شیر خشک	۲
آب	۲۵

۲-۲. تهیه عصاره برگ زیتون

برگهای زیتون از درختچه های دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان (اصفهان) جمع آوری شد و در سایه خشک و سپس آسیاب گردید، بعد از توزین با استفاده از اتانول ۷۲ درصد توسط دستگاه سوکسلیه به مدت ۷۲ ساعت عمل عصاره گیری انجام شد. سپس به وسیله دستگاه روتاری عمده میزان الکل جدا گردید، باقی مانده الکل نیز در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی گراد جدا شد و در نهایت عصاره به دست آمده در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شد. عصاره تهیه شده از برگ زیتون در آب فرمولاسیون کیک حل شد و به مواد خمیر کیک افزوده شد.

۳-۱. اندازه گیری میزان اولئوروپین

از بین سطوح اضافه شده عصاره برگ زیتون تنها سطح ۰/۱ گرم عصاره مورد پذیرش از طرف مصرف کننده قرار گرفت بنابراین

کیک حاوی ۰/۱ گرم عصاره از نظر میزان اولئوروپین توسط دستگاه HPLC مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲-۳-۱. ویژگی های دستگاه HPLC مدل دستگاه مورد استفاده Young Lin Acme دارای دو پمپ و دو دتکتور UV ۲۰۰۰ و Photodiode UV بوده که اولی در طول موج ۲۸۰ نانومتر و دومی در طول موج ۲۰۰-۴۰۰ نانومتر تنظیم شد. ستون مورد استفاده C₁₈ Reverse-phase ساخت کشور کره جنوبی با طول ۱۵ سانتی متر و قطر داخلی ۴/۶ میلی متر که اندازه ذرات آن ۵ میکرومتر بود. ظرفیت لوب مورد استفاده و مقدار نمونه تزریق شده ۲۰ میکرولیتر بود.

۲-۳-۲. کالیبراسیون محلول استاندارد خارجی (تیروزول و سیرینجیک اسید). ۰/۰۳۰ گرم تیروزول و ۰/۰۱۵ گرم سیرینجیک اسید به بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری منتقل شد و با محلول متانول/آب (۲۰/۸۰) حجمی-حجمی به حجم رسانده شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن به بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری منتقل شد و دوباره با محلول متانول/آب (۲۰/۸۰) حجمی-حجمی به حجم رسانده شد. غلظت نهایی محلول شامل ۰/۰۳۰ میلی گرم بر میلی لیتر سیرینجیک اسید و ۰/۰۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر تیروزول است.

۲-۳-۳. آماده سازی محلول استاندارد داخلی (سیرینجیک اسید). ۰/۰۱۵ گرم سیرینجیک اسید در بالن حجمی ۱۰ میلی لیتری ریخته شد و با محلول متانول/آب (۲۰/۸۰) حجمی-حجمی به حجم رسانده شد. سپس ۱ میلی لیتر از محلول به بالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری منتقل شد و با محلول متانول/آب (۲۰/۸۰) حجمی-حجمی به حجم رسانده شد. بنابراین غلظت نهایی محلول ۰/۰۱۵ میلی گرم بر میلی لیتر به دست آمد.

۲-۳-۴. آماده سازی نمونه. ۱/۰۲۰۷ گرم از نمونه آسیاب و به لوله درب پیچ دار ۱۰ میلی لیتری منتقل شد، سپس ۱ میلی لیتر از محلول استاندارد داخلی به آن افزوده شد و با قرار دادن درب لوله به مدت ۳۰ دقیقه تکان داده شد بعد از آن، ۵ میلی لیتر محلول متانول/آب (۲۰/۸۰) حجمی-حجمی اضافه کرده و به مدت ۱ دقیقه دیگر تکان داده سپس به مدت ۱۵ دقیقه در حمام اولتراسونیک در دمای محیط قرار داده و بعد از آن به مدت

۹-syringic acid

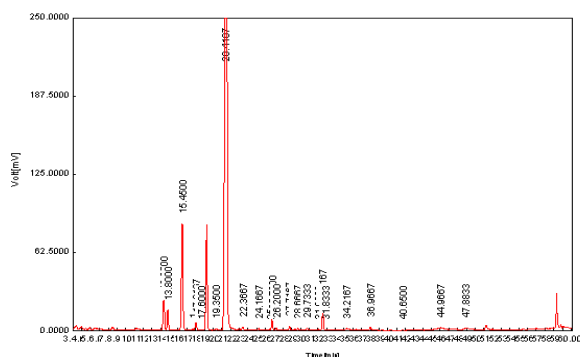
جدول ۲. برنامه شویس دستگاه HPLC (گرادینت) مربوط به کیک حاوی عصاره برگ زیتون.

میزان درصد استو نیتریل	میزان درصد متانول	میزان درصد آب H ₃ PO ₄ ۰/۲ درصد (V/V)	شدت جریان (میلی لیتر بر دقیقه)	زمان (دقیقه)
۲	۲	۹۶	۱	۰
۲۵	۲۵	۵۰	۱	۴۰
۳۰	۳۰	۴۰	۱	۴۵
۵۰	۵۰	۰	۱	۶۰
۵۰	۵۰	۰	۱	۷۰
۲	۲	۹۶	۱	۷۲
۲	۲	۹۶	۱	۸۲

۳. نتایج و بحث

اندازه گیری میزان اولئوروپین مطابق با شکل ۱ و جدول ۳

انجام گرفت.



شکل ۱. کروماتوگرام اولئوروپین در کیک حاوی عصاره برگ زیتون

جدول ۳. زمان بازداری (RT) و سطح زیر نمودار اولئوروپین در کیک

Index	RT(min)	Area[mV*s]	Type	Area %	Peak
۱۹	۵۱۶۷	۱۳۱/۳۹۷۵	BB	۰/۳۹۷۷	(۱ و ۱۲)
	۳۱				روپین (۱۳)

وزن نمونه (کیک) = ۱/۰۲۰۷ گرم

وزن سینترژیک اسید = ۰/۰۷۵

$$\frac{5}{4} = RRF_{syr/tyr}$$

سطح زیر منحنی استاندارد داخلی = ۸۱۵/۷۶

$$\text{اولئوروپین} = \frac{131/3975 \times 1000 \times 5/4 \times 0.075}{815/76 \times 1/0.207} = 63/91188173$$

در کیک حاوی ۰/۱ گرم عصاره برگ زیتون ۰/۰۶۴ میلی گرم

بر گرم اولئوروپین در کیک موجود است.

۲۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ کرده، در نهایت، فاز روپی را با کمک سرنگ ۵ میلی لیتری و با فیلتر PVDF ۰/۴۵ میکرومتری فیلتر شد. برنامه شویس دستگاه HPLC (گرادینت) مطابق با جدول ۲ است.

بعد از اعمال برنامه شویس دستگاه، ۲۰ میکرولیتر از محلول استاندارد خارجی در طول موج ۲۸۰ نانومتر به دستگاه تزریق شد و میزان RF^{۱۰} مطابق معادلات (۱) و (۲) برای ۱ میکروگرم از تیروزول و ۱ میکروگرم سیرینژیک اسید محاسبه شد.

معادله ۱

$$RF_{syr} = \frac{\text{مساحت زیر سطح منحنی سینترژیک اسید}}{\text{(میکرو گرم) وزن سینترژیک اسید}}$$

معادله ۲

$$RF_{tyr} = \frac{\text{مساحت زیر سطح منحنی تیروزول}}{\text{(میکرو گرم) وزن تیروزول}}$$

از طریق معادله (۳) میزان RRF_{syr/tyr} می شود:

معادله (۳)

$$RRF_{syr/tyr} = \frac{RF_{syr}}{RF_{tyr}}$$

سپس ۲۰ میکرولیتر از محلول نمونه تهیه شده در طول موج ۲۸۰ نانومتر به دستگاه تزریق شد. در نهایت میزان اولئوروپین از طریق معادله (۴) محاسبه می شود.

معادله (۴)

$$\text{وزن سینترژیک اسید} \times RRF_{syr/tyr} \times 1000 \times \text{سطح زیر اولئوروپین منحنی} = \text{اولئوروپین} \times \text{وزن نمونه} \times \text{سطح زیر منحنی استاندارد داخلی}$$

۴-۲. تجزیه آماری

در این تحقیق به منظور مقایسه تأثیر سطوح مختلف پودر برگ زیتون بر دانسیته، خواص حسی، شیمیایی و بافتی کیک و سطوح مختلف عصاره برگ زیتون بر خواص حسی کیک از طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (تجزیه واریانس یک طرفه) و سپس مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۵ درصد به کمک نرم افزار SPSS ویرایش ۱۸ استفاده شد.

پورنورمحمدی، ش.، شریفی فر، ف.، طالبیان، ا.، خیاطیان، م.، شمسعلی، ر. و مصلحی، ا. ۱۳۸۸. اثر برگ گیاه زیتون بر افزایش انسولین ترشح شده با واسطه گلوکز از جزایر لانگرهانس جدا شده از پانکراس رت. فصلنامه گیاهان دارویی، ۲۸: ۳۸-۴۶.

صابری، م.، بلوریان، و. و کاظمی صالح، د. ۱۳۸۸. تاثیر برگ زیتون بر فشارخون های ملایم تامتوسط و مقاوم به درمان های معمول فشار خون. فصلنامه گیاهان دارویی، ۵۲: ۲۷-۵۹. مهدیان مهر، ه. و حدادخداپرست، م. ۱۳۸۷. بررسی استفاده از عصاره برگ های زیتون به عنوان منبعی از پلی فنل ها برای پایداری اکسیداتیو و فعالیت آنتی اکسیدانی روغن های نباتی تجاری، اولین همایش برگزاری روغن زیتون، تهران، اسفند. ص ۲۲۴-۲۲۹.

Abu-zaiton, A. And Abu-Albasal, M. A. ۲۰۱۲. Water decoction of olive leaf reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic rats. *International Conference on Medical, Biological and Pharmaceutical Sciences.*, ۱۸: ۱۰۰-۱۰۲.

Amin, M. E., Virk, P., Elobeid, M. A. R., Almarhoon, Z. M., Hassan, Z. K., Omer, S. A., Merghani, N. M., Daghestani, M. H. and Al Olayan, E. M. ۲۰۱۳. Anti-diabetic effect of *Murraya koenigii* (L) and *Olea europaea* (L) leaf extracts on streptozotocin induced diabetic rats. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences.*, ۲۶(۲): ۳۵۹-۳۶۵.

Amiot, M. J., Fleuriet, A. and Macheix, J. J. ۱۹۸۶. Importance and evolution of phenolic compounds in Olive during growth and maturation. *Journal Agricultural Food Chemistry.*, ۳۴: ۸۲۳-۸۲۶.

Ansari, M., Kazemipour, M. and Fathi, S. ۲۰۱۱. Development of a simple green extraction procedure and HPLC method for determination of oleuropein in olive leaf extract applied to a multi-source comparative study. *Iranian Chemical Society.*, ۸: ۳۸-۴۷.

Briante, R., Cara, F. L., Febbraio, F., Patumi, M. and Nucci, R. ۲۰۰۰. Bioactive derivatives from oleuropein by a biotransformation on *Olea*

در آزمون حسی انجام گرفته نمونه حاوی ۰/۱ گرم عصاره از نظر صفاتی مانند طعم و پس طعم تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نداشت، این در حالی بود که بقیه تیمارها مورد پذیرش مصرف کننده قرار نگرفتند. همچنین در مورد صفاتی نظیر طعم، رنگ و بو نمونه های ۰/۱ و ۰/۲ گرم تفاوت معنی داری با نمونه شاهد نداشتند. در مجموع تنها نمونه ۰/۱ گرم از نظر مصرف کننده قابل قبول بود و تیمارهای دیگر مورد پذیرش قرار نگرفتند. علاوه بر آن در بررسی شیمیایی، تفاوت معنی داری در میزان چربی، پروتئین و خاکستر نمونه ها وجود نداشت. هرچند که در میزان خاکستر روند افزایشی مشاهده شد.

۴. نتیجه گیری

از بین سطوح ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ گرم عصاره برگ زیتون به ۵۰ گرم کیک، تنها نمونه حاوی ۰/۱ گرم عصاره مورد پذیرش از سوی مصرف کننده قرار گرفت که در این نمونه ۰/۰۳ گرم اولئوروپین وجود داشت. به عبارتی دیگر ۰/۰۰۶ درصد کیک اولئوروپین است. همچنین تیمارها از نظر میزان چربی، پروتئین و خاکستر تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند.

۵. تشکر و قدردانی

از همکاری واحد کیک و کلوچه شرکت خویان نوش سپاهان (خوئی) که همکاری لازم در جهت انجام این پژوهش را داشته اند، تشکر و قدردانی می شود.

۶. منابع

اسماعیلی دهج، م.، کاکو، م.، رضوانی، م.، میرحسینی، ج. و مشتاقیون، ح. ۱۳۹۱. اثر آنتی آریتمیک عصاره خوراکی برگ زیتون به مدت زمان آن وابسته است. *مجله دانشگاه علوم پزشکی دانشگاه مازندران*، ۹۵: ۶۴-۵۷. جایمند، ک.، رضایی، م.، نجفی، ا. و گلی پور، م. ۱۳۸۸. استخراج و مقایسه میزان اولئوروپین از برگ و گیاه میوه زیتون *Olea europaea* L در سه استان گیلان، تهران، فارس. *فصلنامه پژوهشی*، ۱۳۱(۱): ۸-۱.

- Malik, N. S. A. and Bradford, J. M. ۲۰۰۶. Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in 'Arbequina' olives. *Scientia Horticultural.*, ۱۱۰: ۲۷۴-۷۸.
- Özkaya, F. D. and Özkaya, M. T. ۲۰۱۱. Oleuropein using as an Additive for Feed and Products used for Humans. *Food Processing & Technology.*, ۳: ۱-۷.
- Pereira, A., Marcelino, F., Valentão, P., Andrade, P., Seabra, R., Estevinho, L., Bento, A. and Pereira, J. ۲۰۰۷. Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. *cobrançosa*) leaves. *Molecules.*, ۱۲: ۱۱۶۲-۱۱۵۳.
- Silva, S., Gomes, L., Leitão, F., Coelho, A. V. and Vilas Boas, L. ۲۰۰۶. Phenolic compounds and antioxidant activity of *Olea europaea* L. fruits and leaves. *Food Science and Technology International.*, ۱۲(۵): ۳۸۵-۳۹۶.
- Tayoub, G., Sulaiman, H., Hssan, A. H. and Alorfi, M. ۲۰۱۲. Determination of oleuropein in leaves and fruits of some Syrian olive varieties. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants.*, ۳: ۴۲۸-۴۳۳.
- europaealeaf extracts. *Journal of Biotechnology.*, ۹۳: ۱۰۹-۱۱۹.
- Dekanski, D., Hudomal, S. J., Tadic, V., Markovic, G., Arsic, I. and Mitrovic, D. M. ۲۰۰۹. Phytochemical analysis and gastroprotective activity of an olive leaf extract. *Journal of the Serbian Chemical Society.*, ۷۴(۴): ۳۶۷-۳۷۷.
- European Medicines Agency Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). ۲۰۱۲. Assessment report on *Olea europaea* L. Available from: <http://www.ema.europa.eu>.
- Haloui, E., Marzouk, B., Marzouk, Z., Bouraoui, A. and Fenina, N. ۲۰۱۱. Hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves: Potent anti-inflammatory and analgesic activities. *Journal of Food, Agriculture & Environment.*, ۹ (۳&۴): ۱۲۸-۱۳۳.
- Keskin, D., Ceyhan, N., Uğur, A. and Dbeys, A. ۲۰۱۲. Antimicrobial activity and chemical constitutions of West Anatolian olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Journal of Food, Agriculture & Environment.*, ۱۰(۲): ۹۹-۱۰۲.
- Khalil, M. M. H., Ismail, E. H. and El-Magdoub, F. ۲۰۱۰. Biosynthesis of Au nanoparticles using olive leaf extract. *Arabian Journal of Chemistry.*, ۵: ۴۳۱-۴۳۷.