

# اثر عرق گشنیز، شوید و رازیانه بر ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی عسل تولید شده به روش پروسه و بیولوژیکی

سارا خدری<sup>۱</sup>، محمد گلی<sup>۲\*</sup>، فروغ مرتضایی نژاد<sup>۳</sup>

۱- کارشناسی ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۲- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۳- دانشیار گروه باغبانی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۸/۱۰

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۰۵

## چکیده

عسل دارای خواص فیزیوشیمیایی و دارویی متعددی است که با توجه به منشاء گیاهی، جغرافیایی، عوامل محیطی و گونه‌های زنبور عسل متفاوت بوده و می‌تواند مبنایی برای طبقه‌بندی انواع عسل باشند. این تحقیق با هدف مقایسه و تعیین ترکیبات پلی فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی و رنگ‌سنجی سه نوع عسل (با منابع گیاهی مختلف شامل: گشنیز، شوید و رازیانه) با دو روش تولیدی متفاوت (پروسه‌ای و بیولوژیک) انجام گرفت. بدین منظور آزمون‌های شیمیایی مانند اندازه‌گیری میزان ترکیبات فنولی با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معرف DPPH و آزمون رنگ‌سنجی بر روی عسل‌های تولیدی (پروسه‌ای و بیولوژیک) و عسل طبیعی انجام گردید. در این تحقیق چهار نوع عسل طبیعی یونجه، گشنیز، شوید و رازیانه از مناطق غربی کشور جمع‌آوری و با استفاده از عصاره‌های گیاهی گشنیز، شوید و رازیانه، عسل‌های پروسه و بیولوژیک در شرایط مناسب تولید گشت. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنولی در محدوده (۲۷۴/۶۱-۵۹/۲۶) <sup>میکروگرم اسید کاتیک</sup> (۱۰۰ گرم) بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عسل طبیعی شوید (۸۰٪/۵۲) حاصل شد. اگرچه تولید عسل‌های بیولوژیک نتایج مطلوبی نسبت به عسل پروسه و طبیعی نشان نداد ولی نتایج آزمون‌های عسل پروسه در سطح اطمینان ۵ درصد تفاوت چشمگیری با عسل‌های طبیعی نداشت. لذا تولید عسل‌های پروسه یک روش موثر برای تولید عسل‌های گیاهی با خواص دارویی متفاوت می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** ترکیبات فنولی؛ فعالیت آنتی‌اکسیدانی؛ عسل پروسه؛ عسل بیولوژیک

## ۱- مقدمه

بر اساس تعریف کدکس<sup>۱</sup> مواد غذایی، عسل عبارت است از ماده شیرین طبیعی تولید شده توسط زنبور عسل، از شهد گل‌ها یا ترشحات بخش‌های زنده گیاهان و مواد دفعی حشرات که زنبور عسل این مواد را جمع آوری و آنزیم انورتاز موجود در غدد بزاقی خود را به آن اضافه کرده و در شان‌های عسل ذخیره می‌کند تا عمل آوری شده و به اصطلاح برسند [۳]. یکی از نکات مهم در تعیین مواد تشکیل دهنده عسل روش تجزیه و آنالیز عسل می‌باشد. عسل غنی از آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی از جمله کاتالاز، اسید آسکوربیک، فلاوونوئیدها و آلکالوئیدها است [۴]. آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان نگهدارنده مواد غذایی، در جلوگیری از فساد و تغییر رنگ غذاها که در اثر نور، حرارت دهی و تماس با بعضی از فلزات ایجاد می‌شود، موثر هستند. بطور کلی عسل‌های تیره حاوی آنتی‌اکسیدان‌های بیشتری هستند و خاصیت ضد باکتریایی بیشتری دارند [۴]. ترکیبات فنولی از ترکیبات جزئی عسل می‌باشند ولی تا حد زیادی به ساختار عسل و فعالیت بیولوژیکی کمک می‌کنند. ترکیبات فنولی عسل شامل اسیدهای فنولیک (اسید گالیک، اسید کافئیک، اسید فرولیک، اسید بنزوئیک) و فلاوونوئیدها (میرستین، روتین، کوئرستین، کامپفرول) می‌باشند [۵]. تغییرات در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل ممکن است به علت ماهیت کمی و کیفی پلی‌فنول‌ها باشد که به شدت وابسته به منبع گل، منشأ جغرافیایی و ویژگی‌های آب و هوایی محل تولید می‌باشد دلیل این امر این است که ساختار پلی‌فنول‌ها نقش مهمی در تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایفا می‌کند [۱۰]. در نهایت تجمع پلی‌فنول‌ها با یک ساختار معین، فعالیت آنتی‌اکسیدانی نهایی عسل را تحت تأثیر قرار خواهد داد [۷ و ۱]. عسل می‌تواند از واکنش‌های اکسیداسیون تخریبی در غذاها مانند اکسیداسیون چربی در گوشت و قهوه ای شدن آنزیمی میوه‌ها و سبزیجات جلوگیری کند [۱۴]. بنابراین عسل پتانسیل زیادی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان طبیعی دارد

که می‌تواند یک پارامتر خوب برای ارزیابی کیفیت و پتانسیل درمانی آن باشد [۱۴]. انواع مختلف عسل حاوی ترکیبات فنولی و فلاوونوئیدی متفاوتی می‌باشند و اندازه‌گیری این ترکیبات در عسل‌های مختلف می‌تواند به انتخاب عسل با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا کمک کند [۴]. اگرچه مطالعات بر روی عسل، زنبور عسل و ترکیبات اصلی عسل حدود ۱۰۰ سال پیش شروع شده است اما در سال‌های اخیر توجه به ترکیبات پلی‌فنولی عسل افزایش یافته است و علت آن نقش بالقوه این ترکیبات به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی برای تأیید منشأ جغرافیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی عسل می‌باشد [۱۴ و ۱]. گلدوف<sup>۲</sup> و همکاران (۲۰۰۲) با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و کروماتوگرافی مایع/ اسپکترومتری جرمی (LC/MS) نشان دادند که اکثر عسل‌های مورد آزمون در پروفایل ترکیبات فنولی از نظر کمی متفاوت می‌باشند با این حال ممکن است برخی از ترکیبات فنولی در عسل‌های مناطق گیاهی خاص به صورت منحصر به فرد موجود باشند و به عنوان یک نشانگر به کار روند [۱۱]. برای مثال فلاونون کامپفرول و کوئرستین به ترتیب در عسل‌های رزماری و آفتابگردان به عنوان نشانگر استفاده می‌شوند. هم چنین از بین اسیدهای فولیک، اسیدهای فرولیک و کافئیک نشانگرهای عسل شاه بلوط می‌باشند [۸]. شدت رنگ عسل به مقدار زیادی به ترکیب شیمیایی آن به ویژه رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل، کاراتنوئیدها، فلاوونوئیدها و مشتقات پلی‌فنولها، محتوای مواد فنولی و مواد معدنی بستگی دارد [۱۸]. سوچاوهکاران (۲۰۱۰) ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی ۷ نمونه عسل هندی را مورد بررسی قرار دادند آن‌ها همچنین گزارش کردند که رنگدانه‌ها (عمدتاً فلاوونوئیدها و کارتوئیدها) به طور قابل توجهی به افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل کمک می‌کند [۱۶]. غلظت پلی‌فنول‌ها در عسل‌های مناطق گیاهی مختلف متفاوت است و در دامنه ۴۵۶-۴۶ (میلی‌گرم بر کیلوگرم عسل) می‌باشد و عسل‌های با رنگ تیره معمولاً دارای

۲-Gheldof

۳- Liquid Chromatography/ Mass Spectrometry

۱-Codex Alimentarius Commission

دستگاه‌های ذیل شامل: معرف فولین سیوکالتو ۰/۴ نرمال با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت سیگما، سدیم کربنات ۰/۷ مولار با خلوص ۹۹/۶٪ از شرکت مرک آلمان، اسید گالیک با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت سیگما، DPPH ۰/۰۶ میلی مولار با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت سیگما، متانول با خلوص ۹۹/۹٪ از شرکت مرک آلمان، دستگاه اسپکتروفتومتری مدل Cary 50 تایوان، ترازوی دیجیتال Sartorius آلمان، حمام بن ماری Memert آلمان، شیکر صفحه ای آریان آزما ایران، دستگاه رنگ سنج ساخت ایران، رفرکتومتر دیجیتالی DR201-95 مدل کروس آلمان مورد استفاده گردید.

#### ۱-۲- تهیه نمونه های عسل

عسل طبیعی یونجه، گشنیز، شوید و رازیانه از مناطق غربی کشور جمع آوری شد. عسل طبیعی گشنیز، شوید و رازیانه جهت مقایسه با عسل‌های تولید شده به روش بیولوژیک و پروسه به کار برده شد و از عسل یونجه به عنوان عسل پایه برای تولید عسل پروسه و بیولوژیک استفاده شد.

#### ۱-۱-۲- آماده سازی عرق گیاهی

عرقیات گیاهی از تقطیر مواد فرار موجود در اندام‌های مختلف گیاهان (ساقه، برگ، گلبرگ و بذر) همراه با بخار آب بدست آمد [۲]. در این پژوهش از اندام‌های هوایی (گلبرگ، ساقه و برگ) گیاه شوید (Anethum graveolens dhi)، رازیانه (Foeniculum vulgare) و گشنیز (Coriandrum sativum L.) استفاده گردید. عمل جمع آوری گیاهان در فصل تابستان از منطقه دستگرد اصفهان و خشک کردن آن‌ها نیز در فصل تابستان انجام شد. مکانیزم دستگاه تقطیر بر مبنای تبدیل مایع به بخار می باشد. بدین معنی که پس از جوش آمدن مخلوط آب و گیاه، بخار حاصله توسط قسمت کندانسور دستگاه سرد شده و تبدیل به مایع که همان عرق می باشد، گردید. عرقی که توسط دستگاه تقطیر تهیه شد خالص، شفاف و طبیعی بود [۲]. این فرآیند به مدت ۴-۶ ساعت به طول انجامید.

غلظت‌های بالاتری از پلی فنول‌ها نسبت به عسل‌های رنگ روشن می باشند. عسل گندم سیاه بالاترین میزان پلی فنول‌ها را دارا می باشد. پلی فنول‌های موجود عسل عملکردهای بیولوژیکی آن از جمله فعالیت آنتی اکسیدانی می باشد [۵]. هدف از این تحقیق تولید عسل پروسه و بیولوژیک با افزودن عرق گیاهان دارویی گشنیز، شوید و رازیانه به عنوان مکمل به عسل طبیعی پایه (عسل یونجه) بود. عسل پروسه را با مخلوط کردن عرق‌های گیاهی با عسل پایه با نسبت‌های به ترتیب ۳۰٪ و ۷۰٪ و سپس رطوبت‌گیری با حمام بخار انجام گردید تا به رطوبت استاندارد برسد و عسل پروسه نامیده شد و عسل‌های بیولوژیک را با مخلوط کردن عرق‌های گیاهی با عسل پایه با نسبت‌های به ترتیب ۳۰٪ و ۷۰٪ انجام گردید و سپس برای هر عسل گیاهی یک کندو جداگانه در نظر گرفته شد و هر عسل را با عرق گیاهی مورد نظر درون کندو خاص خودش قرار داده شد تا با تغذیه زنبورها از عسل، عسل‌های جدید تولید و از کندوها استخراج گردید و به اسم عسل بیولوژیک نامیده شد. سپس به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، اندازه‌گیری ترکیبات فنولی و رنگ‌سنجی آن‌ها و مقایسه با عسل‌های طبیعی (عسل گشنیز، شوید و رازیانه) پرداخته شد تا بتوان از این بابت عسل‌های گیاهی تولید شده به روش‌های پروسه و بیولوژیک را طبقه بندی و ویژگی‌های هر عسل را مشخص نمود. اهمیت و ضرورت این تحقیق به علت کمبود پژوهش‌های پیشین در ارتباط با روش‌های مختلف تولید عسل‌های گیاهی و بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی آن‌هاست و در صورت کارآمد بودن، از این روش در صنف زنبورداری به منظور تولید عسل‌هایی با روش‌های تولیدی مختلف با استفاده از مکمل‌های گیاهی می تواند در آینده نزدیک مورد استفاده قرار گیرد.

#### ۲- مواد و روش ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۴ به صورت میدانی و در مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی استان اصفهان انجام شد. عسل‌های طبیعی یونجه، گشنیز، شوید و رازیانه از استان کرمانشاه تهیه شد. به منظور انجام آزمایشات مواد و

**۲-۱-۲- تولید عسل پروسه**

در این روش از عسل طبیعی یونجه به عنوان عسل پایه استفاده شد. عسل پایه (عسل با پایه یونجه) و عرق گیاهان (گشنیز، شوید و رازیانه) با نسبت‌های به ترتیب ۷۰٪ و ۳۰٪ با همزن، همزده شد سپس رطوبت اضافی آن بوسیله حمام بخار آبگرم مدل Memert ساخت کشور آلمان با حرارت زیر ۴۰ درجه سلیسیوس گرفته شد تا به رطوبت اولیه عسل پایه ۱۷٪ برسد. حرارت نباید بالاتر از ۴۰ درجه سلیسیوس باشد تا به مواد موثره موجود در عسل و عرق‌های گیاهی صدمه وارد نشود.

**۲-۱-۳- تولید عسل بیولوژیک**

عسل پایه (عسل با پایه یونجه) و عرق گیاهان (گشنیز، شوید و رازیانه) با نسبت‌های به ترتیب ۷۰٪ و ۳۰٪ با همزن هم زده شد. سپس درون کندوهای زنبور قرار داده شد، برای هر کدام از این ترکیبات (عرقیات مخلوط شده با عسل پایه) یک کندو جداگانه در نظر گرفته شد و بعد از گذشت یک ماه که کندوها در پوش گذاری شدند عسل ها جمع آوری شدند.

**۲-۲- اندازه گیری درصد مهار رادیکال‌های آزاد****DPPH**

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل در حضور رادیکال آزاد او-۱ دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. مقدار ۱/۲۵ میلی‌لیتر از محلول عسل (۰/۲۵ گرم بر میلی لیتر) با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH (۹۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) مخلوط شد و پس از ۳۰ دقیقه نگهداری در تاریکی جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل نمونه شاهد قرائت گردید. نمونه شاهد طبق روش بالا تهیه شد با این تفاوت که به جای محلول عسل، ۱/۲۵ میلی‌لیتر متانول با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH مخلوط شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۱۷ و ۱۶]:

$$\text{DPPH} = \frac{(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{blank}}} \times 100$$

در این فرمول  $A_{\text{blank}}$  جذب نوری کنترل منفی را که فاقد نمونه‌های عسل می باشد را نشان می‌دهد و  $A_{\text{sample}}$  میزان جذب نوری غلظت‌های مختلف عسل را بیان می‌کند.

**۲-۳- اندازه گیری ترکیبات فنولی (TPC)**

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عسل به روش فولین-سیوکالتو<sup>۱</sup> مورد بررسی قرار گرفت. ۲/۵ گرم از هر نمونه عسل در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل و توسط کاغذ فیلتر واتمن ۴ فیلتر شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر از معرف فولین-سیوکالتو ۰/۴ نرمال مخلوط گردید و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. پس از آن ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۰/۷ نرمال به محلول اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر در برابر نمونه شاهد قرائت گردید. برای تهیه نمونه شاهد به جای ۲/۵ گرم عسل، ۲/۵ گرم متانول خالص برداشته شد و بقیه مراحل طبق روش بالا انجام گرفت. مقدار کل ترکیبات فنولی از روی معادله رگرسیون بر مبنای (میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عسل (ماده خشک)) بیان گردید [۱۲ و ۱۴]. در این معادله X مقدار جذب و Y مقدار کل ترکیبات فنولی می‌باشد.

$$Y = 170.3x - 6.238 \quad (R^2 = 0.975)$$

**۲-۴- اندازه گیری شدت رنگ**

شاخص‌های رنگ  $a$ ,  $b$ ,  $L$  نمونه‌های عسل توسط دستگاه رنگ‌سنج که از قبل با صفحه سفید کالیبره شده بود اندازه گیری شد. مقدار شاخص  $L^*$  (برای جسم سیاه از ۰ تا ۱۰۰) برای سطح سفید استاندارد است. شاخص  $a^*$  از (سبز ۱۲۰- تا قرمز ۱۲۰) و شاخص  $b^*$  از (زرد ۱۲۰ تا آبی ۱۲۰-) است.

### ۳- نتایج و بحث

#### ۳-۱- میزان کل ترکیبات فنولی

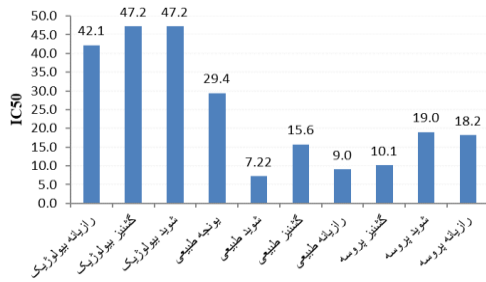
مقادیر کل ترکیبات فنولی در جدول ۱ آورده شده است. عسل طبیعی شوید دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی بوده و با سایر نمونه‌ها تفاوت معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ) و عسل طبیعی یونجه دارای کمترین میزان ترکیبات پلی فنولی (میلیگرم اسید گالیک / ۱۰۰ گرم) ۵۹/۲۶ داشت. با توجه به تحقیقات انجام شده یکی از مشخصه‌های میزان ترکیبات پلی فنولی در عسل، رنگ عسل می‌باشد که عسل شوید رنگ تیره‌تری داشت. غلظت و نوع مواد فنولی عسل‌های مختلف نیز متفاوت می‌باشد [۱۶]. میزان این ترکیبات به شدت تحت تأثیر نوع

گل، منشأ جغرافیایی و ویژگی‌های آب و هوایی محل تولید می‌باشد [۱۰]. مقدار ترکیبات فنولی عسل می‌تواند یک پارامتر خوب برای ارزیابی کیفیت و پتانسیل درمانی آن باشد [۱۴]. عسل‌های پروسه و عسل‌های بیولوژیک میزان ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به عسل پایه (یونجه) داشتند و این تحت تأثیر خواص دارویی عرق‌های گیاهی می‌باشد. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق عسل شوید با داشتن مقدار (میلیگرم اسید گالیک / ۱۰۰ گرم) ۲۷۴/۶۱ از این بابت دارای کیفیت بهتری نسبت به سایر نمونه‌های عسل هستند و از مقادیر ترکیبات پلی فنولی بالایی برخوردار هستند.

جدول ۱: مقایسه میزان ترکیبات فنولی کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی انواع تیمارهای عسل

نمونه عسل		ترکیبات فنولی ( $\frac{\text{mg Galic acid}}{100\text{g}}$ )	فعالیت آنتی‌اکسیدانی (%)
تیمار	پایه		
شاهد	یونجه	۵۹/۲۶±۰/۱ <sup>i</sup>	۴۳/۶۲±۰/۱ <sup>f</sup>
طبیعی	گشنیز	۱۲۷/۵۱±۰/۰۵ <sup>c</sup>	۵۹/۹۷±۰/۰۳ <sup>d</sup>
	رازیانه	۲۴۴/۶۱±۰/۲ <sup>a</sup>	۶۰/۸۷±۰/۱ <sup>c</sup>
	شوید	۲۷۴/۶۱±۰/۲ <sup>a</sup>	۸۰/۵۲±۰/۰۷ <sup>a</sup>
پروسه	گشنیز	۱۳۱/۳۲±۰/۳ <sup>b</sup>	۶۰/۹۷±۰/۰۵ <sup>c</sup>
	رازیانه	۱۱۲/۸۵±۰/۱ <sup>e</sup>	۵۶/۱۵±۰/۰۶ <sup>e</sup>
	شوید	۱۴۵/۲۳±۰/۱ <sup>d</sup>	۶۷/۵۴±۰/۰۷ <sup>b</sup>
بیولوژیک	گشنیز	۷۲/۷۳±۰/۱ <sup>h</sup>	۳۵/۹۲±۰/۰۶ <sup>i</sup>
	رازیانه	۸۷/۳۳±۰/۱ <sup>g</sup>	۳۸/۶۲±۰/۱ <sup>h</sup>
	شوید	۸۹/۳۵±۰/۲ <sup>f</sup>	۳۹/۱۳±۰/۱ <sup>g</sup>

حروف غیر مشترک در هر ستون بیانگر تفاوت معنی‌دار داده‌ها در سطح اطمینان ۵ درصد می‌باشد



نمودار ۱- IC50 تیمارهای مختلف عسل ( بر حسب میلی گرم بر میلی لیتر)

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های عسل بر حسب IC50 نیز به صورت نمودار ۱ بیان گردید. تمامی نمونه های عسل در غلظت های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میلی گرم بر میلی لیتر محاسبه گشت. بر اساس محاسبات انجام گرفته در نمودار ۱ شوید طبیعی و رازانه طبیعی به ترتیب ۷/۲۲ و ۹ (میلی گرم بر میلی لیتر) کمترین میزان IC50 را در بین سایر نمونه ها دارا بود. غلظت مهار ۵۰٪ در عسل شوید ۷/۲۲ (میلی گرم بر میلی لیتر) بدست آمد همان طور که نتایج نشان داده شد فعالیت مهار رادیکال های آزاد DPPH در عسل طبیعی شوید از سایر نمونه ها بیشتر است.

### ۳-۳- آزمون رنگ سنجی

در جدول ۲ مقادیر آزمون های رنگ سنجی نشان داده شده است. در بین نمونه ها عسل طبیعی رازانه و شوید پارامتر رنگی  $a^*$  با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ( $P > 0.05$ ) و تمایل به سمت رنگ قرمز دارند. در پارامتر رنگی  $b^*$  عسل های طبیعی شوید و رازانه در بین سایر نمونه ها بیشترین تمایل رنگی را به زرد دارند و با سایر نمونه ها اختلاف معنی دار نداشتند ( $P < 0.05$ ) کمترین پارامتر  $b^*$  در میان عسل های بیولوژیک و عسل طبیعی یونجه مشاهده شده است که با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ( $P > 0.05$ ). اما با سایر نمونه ها اختلاف معنی دار داشتند ( $P < 0.05$ ) و رنگ آنها به زرد بسیار روشن تمایل داشت. پارامتر رنگی  $L^*$  عسل طبیعی شوید و رازانه با یکدیگر اختلاف معنی دار نداشتند ( $P > 0.05$ ) و هرچه مقدار عددی  $L^*$  به سمت صفر میل کند رنگ نمونه تیره تر می شود.

### ۲-۳- فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش

#### DPPH

درصد فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های عسل در جدول ۱ نشان داده شده است. در میان عسل های تولیدی عسل طبیعی شوید با مقدار ۸۰/۵۲٪ دارای بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بود و با سایر نمونه ها اختلاف معنی داری داشت ( $p < 0.05$ ). در این میان عسل های بیولوژیک (گلشنیز، شوید و رازانه) دارای کمترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بودند. بنابراین میزان بالای فعالیت آنتی اکسیدانی عسل طبیعی شوید به علت میزان بالای ترکیبات فنولی موجود در آنها بود. فعالیت آنتی اکسیدانی عسل های طبیعی به حضور بسیاری از مواد مختلف مانند آنزیم ها، محصولات واکنش مایلارد، اسیدهای آلی، اسیدهای فنولیک، فلاوونوئیدها، اسیدهای آمینه، پپتیدها، اسیدآسکوربیک نسبت داده می شود [۱۶]. تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی بین انواع عسل به علت تفاوت مقدار آنتی اکسیدان های عسل به خصوص میزان ترکیبات فنولی آنها می باشد [۱۶]. سوچا و همکاران (۲۰۱۰) ویژگی های فیزیکیوشیمیایی و آنتی اکسیدانی ۷ نمونه عسل هندی را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که میزان ترکیبات فنولی و فعالیت مهار رادیکال DPPH همه نمونه ها بطور معنی داری متفاوت بود و فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه هایی با میزان ترکیبات فنولی بیشتر، بالاتر بود [۱۶]. آنها هم چنین گزارش کردند که رنگدانه ها (عمدتاً فلاوونوئیدها و کارتنوئیدها) به میزان قابل توجهی افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های عسل کمک می کند [۱۶]. گروه های بسیار واکنش پذیر مانند پلی فنول ها در گیاهان به عنوان آنتی اکسیدان و عوامل حفاظتی در برابر آسیب های مختلف عمل می کنند. بنابراین ممکن است نقش مهمی در کنترل واکنش های اکسیداتیو در بدن انسان ایفا کنند [۵ و ۱]. ظرفیت آنتی اکسیدانی عسل نیز مانند سایر خصوصیات به منابع گل که اغلب وابسته به عوامل فصلی و محیط زیست و هم چنین روش های فرآوری عسل بستگی دارد [۱۴]. بنابراین میزان بالای فعالیت آنتی اکسیدانی عسل طبیعی شوید می تواند به علت میزان بالای ترکیبات فنولی آنها باشد [۵].

شدت رنگ همچین به محصولات واکنش مایلارد نیز مربوط می‌شود [۱۳]. شدت رنگ نمونه‌های عسل با پارامتر  $L^*$  یک همبستگی معکوس نشان داد. این بدان معنیست که هرچه میزان پارامتر  $L^*$  نمونه کمتر باشد شدت رنگ آن نمونه بیشتر است. بنابراین عسل طبیعی شوید و رازیانه دارای کمترین میزان  $L^*$  را در میان سایر نمونه‌های عسل داشت. شدت رنگ همچین با پارامتر  $a^*$  همبستگی مثبتی نشان داد. در واقع هرچه میزان قرمزی نمونه بیشتر شود، شدت رنگ آن نیز بیشتر می‌شود [۱۳]. بنابراین عسل‌های طبیعی رازیانه و شوید با داشتن بیشترین میزان  $a^*$  نسبت به سایر نمونه‌ها بیشترین میزان شدت رنگ را داشت و به نسبت دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و پلی فنولی بالایی نیز می‌باشند.

در میان نمونه‌های عسل، عسل طبیعی شوید و رازیانه بیشترین میزان رنگ را در بین سایر نمونه‌ها داشتند. رنگ عسل به مقدار زیادی به ترکیب شیمیایی آن به ویژه رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل‌ها، کاراتنوئیدها، فلاوونوئیدها و مواد معدنی بستگی دارد. رنگ تحت تاثیر روش برداشت، زمان نگهداری و دمای نگهداری قرار می‌گیرد. عسل‌های طبیعی از لحاظ رنگ بسیار متغیر می‌باشند به طوری که رنگ آن تقریباً از بی‌رنگ (عسل شبدر) تا بسیار تیره (عسل‌های گندم سیاه) متغیر می‌باشد. عسل‌های تهیه شده از منابع گیاهی مختلف دارای ترکیبات و غلظت‌های مختلف رنگدانه‌ها (عمدتاً پلی‌فنول‌ها و کاراتنوئیدها) می‌باشند [۵]. تصور می‌شود که شدت رنگ به وجود همین رنگدانه‌ها که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی نیز می‌باشند بستگی دارد.

جدول ۲- پارامترهای رنگ‌سنجی انواع تیمارهای عسل

نوع عسل		$L^*$	$a^*$	$b^*$
تیمار	پایه			
شاهد	یونجه	$73/71 \pm 0/3^a$	$-13/03 \pm 0/2^b$	$12/24 \pm 0/8^d$
	گشنیز	$70/03 \pm 0/4^a$	$-11/32 \pm 0/6^b$	$43/25 \pm 0/6^b$
طبیعی	رازیانه	$36/07 \pm 0/2^b$	$6/17 \pm 0/2^a$	$36/19 \pm 0/2^a$
	شوید	$36/43 \pm 0/2^b$	$7/48 \pm 0/2^a$	$36/89 \pm 0/2^a$
پروسه	گشنیز	$71/04 \pm 0/2^a$	$-11/90 \pm 0/2^b$	$22/90 \pm 0/4^b$
	رازیانه	$69/15 \pm 0/2^a$	$-11/61 \pm 0/2^b$	$20/19 \pm 0/4^c$
	شوید	$69/35 \pm 0/2^a$	$-11/52 \pm 0/2^b$	$25/39 \pm 0/2^b$
بیولوژیک	گشنیز	$77/12 \pm 0/2^a$	$-12/09 \pm 0/6^b$	$12/16 \pm 0/2^d$
	رازیانه	$74/17 \pm 0/2^a$	$-12/54 \pm 0/2^b$	$13/66 \pm 0/7^d$
	شوید	$79/33 \pm 0/2^a$	$-12/09 \pm 0/3^b$	$11/16 \pm 0/7^d$

حروف غیر مشترک در هر ستون بیانگر تفاوت معنی دار داده‌ها در سطح اطمینان ۵ درصد می‌باشد

**۴- نتیجه گیری**

روش های تولیدی متفاوت عسل نشان داد که می توان از مکمل های غذایی به همراه عسل استفاده شود. عسل طبیعی یونجه فعالیت آنتی اکسیدانی برابر با ۴۳/۶۲٪ می باشد و عسل های پروسه تولیدی از عسل پایه فعالیت آنتی اکسیدانی بالاتری از عسل پایه داشتند که به دلیل خواص آنتی اکسیدانی عرق های گیاهی اضافه شده به آنها بود. اگرچه تولید عسل های بیولوژیک نتایج مطلوبی نسبت به عسل های پروسه و طبیعی نشان ندادند ولی نتایج آزمون های عسل پروسه تفاوت چشم گیری با عسل های طبیعی نداشتند. تولید عسل های پروسه می تواند یک روش مطمئن و موثر برای تولید عسل های گیاهی با خواص دارویی باشد اما عسل های بیولوژیک علاوه بر هزینه بر بودن، دارای خواص آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به عسل های طبیعی و پروسه بودند از طرفی به دلیل حضور ترکیبات فلاونوئید و کارتنوئید رنگ نمونه تیره تر می شود و هرچه میزان این ترکیبات در عسل بیشتر باشد نمونه دارای ترکیبات فنولی، ضد سرطانی و آنتی اکسیدانی است و در بین این نمونه های عسل به ترتیب عسل طبیعی شوید و رازیانه تیره ترین و بالاترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی را به خود اختصاص دادند.

**۵- سپاس گزاری**

از دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان (واحد خوراسگان) به دلیل حمایت های آزمایشگاهی در خصوص اجرای صحیح آزمایشات تشکر و قدردانی می نمایم.

**۶- منابع**

- ۳- موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران ۱۳۷۷. عسل، ویژگی ها و روش های آزمون. استاندارد شماره ۲۹
- 4- Alvarez –Suarez, J.M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. and Bertoli, M. 2010. Contribution of honey in nutrition and human health: a review, *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3:15-23.
- 5- Alvarez, L. M. 2011. Honey proteins and their interaction with polyphenols, Faculty of Mathematic and Sciences, Brock University.
- 6- Avila, M., Crevillen, A.G., Gonzalez, M.C., Hortiguera, L.V., de Lorenzo Cametero, C. and Martin, P. 2007. Anti oxidant capacity in honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20( 2): 119-124.
- 7- Brudzynski, K. and Mitto, D. 2011. The recognition of high molecular weight melanoidins as the main components responsible for radical-scavenging capacity of unheated and heat-treated Canadian honeys. *Food Chemistry*, 125: 570-575.
- 8- Codex Alimentarius Commission. 1989. Codex standards for sugars (Honey) supplement II to Codex Alimentarius. 111:17-20.
- 9- Dong, R., Zheng, Y. and Xu, B. 2013. Phenolic profile and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food Bioprocess Technology*, 6: 762-770.
- 10- Escudo, O., Silval, R. and Andrade, P. 2012. Assessing Rubus honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chemistry*, 130: 671-678.
- 11- Gheldof, N., Wang, X. and Engeseth, N.J. 2012. Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 5870-5877.
- 12- Meda, A., Lamien, C.E., Romito, M., Millogo, J. and Nacoulma, O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Faso honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91: 571-577.
- 13- Miotto, D. 2011. Elucidation of the components involved in the antioxidant activity of honey, Faculty of Biological Sciences, Brock University.
- 14- Pichichero, E., Canuti, L. and Canini, A. 2009. Characterisation of phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin.

- ۱- خلفی، ر. گلی، ا. ح. و بهجتیان اصفهانی، م. ۱۳۹۲. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عسل های تولید شده از مناطق گیاهی مختلف. بیست و یکمین کنگره ملی علوم و صنایع غذایی
- ۲- صالحی سورمقی، ح. ۱۳۸۷. عرقیات و هزاران حرف نگفته. مجله سلامت، شماره ۱۷۵، ۳۰-۲۸



Journal of the Science of Food and Agriculture, 89: 609-616.

15- Saxena, S., Gautam, S. and Sharma A. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. Food Chemistry, 118:391-397.

16- Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Galkowska, D., Fortuna, T. and Witzak, T. 2011. Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. International Journal Food Science Technology Nutrition, 46: 528-534.

17- Vela, L., de Lorenzo, C. and Perez, R.A. 2007. Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties. Journal of the Science of Food and Agriculture, 87: 1069-1075.