

خواص فیزیکوشیمیایی و آنتی اکسیدانی عسل حاوی عرق شوید به روش های پروسه ای و بیولوژیکی

سارا خدری^۱، محمد گلی^{۱*}، فروغ مرتضایی نژاد^۲

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

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

(تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۰۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱۰)

چکیده

انواع عسل دارای خواص فیزیکوشیمیایی و دارویی متعددی می باشد که این تفاوت بستگی به منشأ گیاهی، جغرافیایی، عوامل محیطی و گونه زنبور عسل دارد. در این تحقیق مقایسه خواص فیزیکوشیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عسل شوید تولیدی با دو روش فرآوری شده (پروسه ای) و روش بیولوژیک انجام گرفت. آزمون های فیزیکوشیمیایی شامل رطوبت، pH، اسیدیته، ویسکوزیته، رنگ سنجی، مقدار کل ترکیبات فنولی به روش فولین-سیوکالتیو و فعالیت آنتی اکسیدانی (DPPH) برای عسل شوید، عسل پروسه ای و بیولوژیکی حاوی عرق شوید، و عسل طبیعی شاهد (پایه یونجه) انجام شد. نتایج نشان داد بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی در عسل طبیعی شوید (۸۰/۵۲ درصد) حاصل شد. عسل طبیعی یونجه دارای فعالیت آنتی اکسیدانی برابر با ۴۳/۶۲ درصد بود. اگر چه تولید عسل بیولوژیک نتایج مطلوبی نسبت به عسل پروسه ای و طبیعی نشان نداد ولی نتایج آزمون های عسل پروسه ای تفاوت مشهودی با عسل طبیعی نداشت ($P < 0.05$). لذا تولید عسل پروسه ای یک روش موثر برای تولید عسل گیاهی با خواص دارویی متفاوت است. اما عسل بیولوژیک علاوه بر هزینه زیاد، دارای خواص آنتی اکسیدانی کمتری نسبت به عسل طبیعی و پروسه ای می باشد. عسل های تیره تر دارای ترکیبات فنولی، فلاونوها و فلاونوئیدهای بیشتر و در نتیجه فعالیت آنت اکسیدانی بیشتری بودند.

کلید واژگان: عرق شوید، عسل فرآوری شده و بیولوژیکی، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی اکسیدانی، خواص فیزیکوشیمیایی

۱- مقدمه

از گیاه شوید به عنوان درمان کننده نفخ شکم و بی خوابی، ادرار آور، تقویت کننده معده و اشتها و رفع انقباضات عضلانی استفاده می شود [۱]. براساس تعریف کدکس، عسل ماده شیرین طبیعی تولید شده بوسیله زنبورهای عسل، از شهد گل ها یا ترشحات بخش های زنده گیاهان بوده که زنبور این مواد را جمع آوری کرده و با اضافه کردن آنزیم انورتاز موجود در غدد بزاقی خود در شان های مخصوص ذخیره می کند تا عمل آوری شده و به اصطلاح برسند [۲].

یکی از نکات مهم در تعیین مواد تشکیل دهنده عسل روش تجزیه و آنالیز عسل می باشد. بیشتر خصوصیات عسل با تغییر مقدار آب آن تغییر می کنند. بنابر این برای شناخت خصوصیات فیزیکی عسل و نیز حفظ کیفیت آن باید به مقدار رطوبت عسل توجه کافی مبذول گردد [۳]. باتوجه به موسسه استاندارد و تحقیقات ملی ایران حداکثر میزان رطوبت عسل ۲۰٪ می باشد [۴]. اسیدهای آلی عسل اگرچه در حد کم و حدود ۰/۵۷ درصد است اما pH اسیدی آن تا حدود ۳/۹۱ هست. مهمترین اسیدها در عسل، اسید گلوکونیک بوده که محصول آنزیمی تجزیه گلوکز است و ۷۰ تا ۸۰ درصد کل اسیدهای عسل را تشکیل می دهد [۵]. اسیدی شدن عسل باعث فعالیت ضد باکتریایی می شود و بر طعم آن نیز اثر می گذارد. تخمیر عسل باعث افزایش اسیدیته می شود [۳]. pH عسل تحت تاثیر شرایط استخراج و نگهداری بوده و این تغییرات بر بافت، پایداری و زمان انبارمانی آن اثر می گذارد و شاخص بسیار سودمندی برای تشخیص رشد احتمالی میکروب ها محسوب می شود [۶]. ویسکوزیته عسل یک ویژگی مهم است که بر خواص فیزیکوشیمیایی و حسی عسل موثر است و بستگی به فاکتورهایی مانند دما، میزان آب، ساختار شیمیایی، مقدار و اندازه کریستال و انواع کلوئیدهای موجود در آن دارد [۷]. عسل غنی از آنتی اکسیدان های آنزیمی (کاتالاز) و غیر آنزیمی (اسید آسکوربیک، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها) است. آنتی اکسیدان ها 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 می شود، موثر هستند. بطور کلی عسل های تیره حاوی آنتی اکسیدان های بیشتری بوده و خاصیت ضد باکتریایی بیشتری دارند [۸]. پلی فنول ها گروهی از ترکیبات موثر در خواص ظاهری و عملکردی عسل می باشند و

میزان این ترکیبات به شدت تحت تأثیر نوع گل، منشأ جغرافیایی و ویژگی های آب و هوایی محل تولید می باشد [۹]. ترکیبات فنولی از ترکیبات جزئی عسل بوده ولی تا حد زیادی به فعالیت بیولوژیکی کمک می کنند و شامل اسیدهای فنولیک (اسید گالیک، اسید کافئیک، اسید فرولیک، اسید بنزوئیک) و فلاونوئیدها (میرستین، روتین، کوئرستین، کامپفرول) می باشند. شدت رنگ عسل به مقدار زیادی به ترکیب شیمیایی آن به ویژه رنگدانه هایی مانند کلروفیل، کاراتنوئیدها، فلاونوئیدها و مشتقات پلی فنول ها، محتوای مواد فنولی و مواد معدنی بستگی دارد [۱۰]. سوچا و همکاران (۲۰۱۰) ویژگی های فیزیکوشیمیایی و آنتی اکسیدانی ۷ نمونه عسل هندی را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که رنگدانه ها (عمدتاً فلاونوئیدها و کارتنوئیدها) به طور قابل توجهی به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی عسل کمک می کند [۱۱]. امروزه تغییر در جیره غذایی زنبور عسل و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی عسل نهایی تولید شده موضوع جدیدی است که تولیدکنندگان را بر این امر تشویق کرده است. برای مثال فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی سه نوع عسل حاصل از تغییر در جیره غذایی زنبور شامل آب سیب، عصاره ریشه و گل های شیرین بیان و گل های منطقه بدون تاکید بر گیاه خاصی) بررسی و با سایر عسل های تولیدی منطقه مقایسه شده است [۱۲]. هدف از این تحقیق تولید عسل پروسه ای و بیولوژیکی با افزودن عرق گیاه دارویی شوید به عنوان مکمل به عسل طبیعی پایه (عسل یونجه) بود. عسل پروسه ای با مخلوط کردن عرق شوید با عسل پایه با نسبت به ترتیب ۳۰ و ۷۰ درصد و سپس رطوبت گیری با حمام بخار تا رسیدن به رطوبت استاندارد تولید شد. عسل بیولوژیک با مخلوط کردن عرق شوید با عسل پایه با نسبت به ترتیب ۳۰ و ۷۰ درصد و سپس قرارگیری این مخلوط درون کندوهای زنبور عسل جهت تغذیه زنبورها از آن، عسل جدیدی تحت عنوان عسل بیولوژیک تولید شد. اهمیت و ضرورت این تحقیق کمبود پژوهش های پیشین در ارتباط با روش های مختلف تولید عسل های گیاهی و بررسی خواص فیزیکوشیمیایی آن ها است تا در آینده نزدیک با تغذیه هدفمند از گیاهان دارویی به تولید عسل هایی با خواص فراسودمندی متفاوت اقدام نمود.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

این پژوهش در سال ۱۳۹۷ به صورت میدانی و در مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی بر روی عسل فراوری شده به روش پروسه‌ای و بیولوژیک حاصل از عرق گیاهی شوید در سه تکرار انجام شد. عسل یونجه به عنوان عسل پایه برای تولید عسل‌های پروسه‌ای و بیولوژیک استفاده شد. معرف فولین سیوکالتو ۰/۴ نرمال با خلوص ۱۰۰ درصد از شرکت سیگما، سود ۰/۱ نرمال با خلوص ۱۰۰ درصد از شرکت سیگما، سدیم کربنات ۰/۷ مولار با خلوص ۹۹/۶ درصد از شرکت مرک آلمان، اسید گالیک با خلوص ۱۰۰ درصد از شرکت سیگما، DPPH 06/0 میلی مولار با خلوص ۱۰۰ درصد از شرکت سیگما، متانول با خلوص ۹۹/۹ درصد از شرکت مرک آلمان، دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل Cary 50، تایوان)، ترازوی دیجیتال (مدل Sartorius، آلمان)، حمام بن‌ماری (مدل Memert، آلمان)، شیکر صفحه‌ای (مدل آریان آزما، ایران)، رنگ سنج هانتر لب (مدل D25-9000، آمریکا)، رفراکتومتر دیجیتالی (مدل کروم، آلمان)، ویسکومتر (مدل بروکفیلد، آلمان)، هیتز مگنت‌دار (مدل ۵۰۰، ایرانی) و PH متر (مدل ۸۲۷ متروم، سوئیس) استفاده شد.

۲-۲- آماده‌سازی عرق گیاهی

در این پژوهش از اندام‌های هوایی (گلبرگ، ساقه و برگ) گیاه شوید (*Anethum graveolens*) استفاده گردید. عمل جمع‌آوری گیاهان در فصل تابستان با خشک کردن خورشیدی ادامه یافت و توسط دستگاه تقطیر کلونجر به مدت ۶-۴ ساعت، عصاره‌گیری صورت گرفت.

۲-۳- تولید عسل پروسه‌ای

در این پژوهش از عسل طبیعی یونجه به عنوان عسل پایه استفاده شد. عسل پایه و عرق گیاه شوید با نسبت‌های به ترتیب ۷۰ و ۳۰ درصد هم‌زده شد و رطوبت اضافی آن بوسیله حمام بخار آب‌گرم در حرارت زیر ۴۰ درجه سلسیوس به رطوبت اولیه عسل پایه یعنی ۱۷ درصد رسید.

۲-۴- تولید عسل بیولوژیک

عسل پایه و عرق گیاه شوید با نسبت‌های به ترتیب ۷۰ و ۳۰ درصد هم‌زده شدند و درون کندوهای زنبور قرار داده شد و

بعد از گذشت یک ماه که کندوها درپوش گذاری شدند و عسل‌ها جمع‌آوری شدند.

۲-۵- اندازه‌گیری اسیدیته آزاد عسل

۱۰ گرم از نمونه عسل را وزن کرده و در ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد. محلول در مجاورت شناساگر فنل فتالین با سود ۰/۱ نرمال تیترا شد (رنگ نقطه پایانی باید ۱۰ ثانیه باقی بماند). آزمایش شاهد برای آب مقطر و شناساگر انجام شد. برای عسل‌های کدر و پررنگ مقدار نمونه را می‌توان نصف کرد [۴].

۲-۶- اندازه‌گیری ویسکوزیته

ویسکوزیته عسل توسط دستگاه ویسکومتر بروکفیلد با استفاده از اسپیندل L4 با سرعت ۵۰ دور در دقیقه و در دمای ۲۰ درجه سلسیوس اندازه‌گیری شد [۴].

۲-۷- اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال آزاد

DPPH

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل در حضور رادیکال آزاد ۱-او-دی فنیل ۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. مقدار ۱/۲۵ میلی‌لیتر از محلول عسل (۰/۰۲۵ گرم بر میلی‌لیتر آب مقطر) را با ۱/۵ میلی‌لیتر محلول متانولی DPPH مخلوط کرده و سپس 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 DPPH مخلوط شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به صورت درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید [۴ و ۱۰].

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل بر حسب IC50 هر نمونه بیان گردید. تمامی نمونه‌ها در غلظت‌های ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه شدند.

DPPH = درصد مهار رادیکال آزاد

$$(\text{Abblank} - \text{Absample}) / \text{Abblank} \times 100$$

Abblank) جذب نوری کنترل منفی (فاقد نمونه عسل) و

Absample) جذب نوری نمونه عسل می‌باشد)

۲-۸- اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در عسل به روش فولین-سیوکالتو مورد بررسی قرار گرفت. ۲/۵ گرم از هر نمونه عسل در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل و توسط کاغذ 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 میلی لیتر 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 معادله رگرسیون (بر مبنای میلی گرم اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عسل) بیان گردید [۱۴]. در این معادله X مقدار جذب و Y مقدار کل ترکیبات فنولی می باشد.

مقدار کل ترکیبات فنولی $170 \times 3 = 510$ (مقدار جذب) - ۶۲۳۸

۲-۹- اندازه گیری شدت رنگ

شاخص های رنگ a, b , نمونه های عسل توسط دستگاه رنگ سنج هانتربل اندازه گیری شد. مقدار شاخص L (۰ تا ۱۰۰) و شاخص a (سبز ۶۰- تا قرمز ۶۰) و شاخص b (زرد ۶۰ تا آبی ۶۰-) نمونه در نظر گرفته شد.

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل داده ها

کلیه آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. آنالیز آماری با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. معنی داری نمونه ها با آزمون دانکن و در سطح احتمال ۹۵ درصد ارزیابی شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- رطوبت

کیفیت عسل تولید شده توسط زنبوردار بستگی به میزان رطوبت دارد. کمسیون مواد غذایی کدکس و کمسیون اروپا معیارهایی برای کنترل کیفیت عسل ارائه نموده اند. بر اساس این طرح میزان رطوبت عمومی عسل حداکثر ۲۰ گرم در ۱۰۰ گرم بیان شده است [۲]. مقادیر کلی رطوبت در جدول ۱ آمده است. همه نمونه های عسل مقدار رطوبت زیر ۲۰ درصد، حداکثر رطوبت مطابق با استاندارد کدکس، را دارند. عسل های طبیعی شوید دارای کمترین میزان رطوبت یعنی ۱۶ درصد بودند و تفاوت قابل توجهی با عسل طبیعی یونجه نداشتند ولی با سایر نمونه ها تفاوت قابل توجهی داشتند ($P > 0.05$). مقدار

رطوبت عسل بستگی به عوامل مختلفی مانند فصل برداشت، عوامل آب و هوایی، درجه رسیدگی در کندو، نوع گل، موقعیت جغرافیایی، مقدار رطوبت گیاه اصلی، روش های فراوری و شرایط نگهداری عسل دارد [۱۵]. رطوبت بالا باعث تخمیر نامطلوب عسل در طول انبارداری به علت تأثیر مخمرهای اسموفیلیک و تشکیل اتیل الکل و دی اکسیدکربن می شود. الکل نیز می تواند به اسید استیک و آب اکسید شده و باعث طعم ترش در عسل گردد. رطوبت زیاد، کریستالیزاسیون را در برخی از انواع عسل تسریع می کند و فعالیت آبی را تا مقداری که برخی از مخمرها بتوانند در آن رشد کنند افزایش می دهد [۱۶]. مقدار رطوبت پایین عسل یک عامل مهم کمک کننده به ثبات آن در برابر تخمیر و تبلور در طی نگهداری می باشد [۱۷]. لذا رطوبت بالای عسل های بیولوژیک به روش فراوری متفاوت و شرایط نگهداری و درجه رسیدگی آنها بستگی دارد. رطوبت بالای محصول منجر به کاهش ویسکوزیته شده است و در نتیجه عسل های طبیعی (شوید و یونجه) دارای رطوبت پایین و ویسکوزیته بالا بودند [۱۸].

۳-۲- ویسکوزیته

بیشترین میزان ویسکوزیته مربوط به عسل شاهد یا یونجه طبیعی با مقدار ۳۶۱ پویز بود که با سایر نمونه ها تفاوت معنی داری داشت ($P > 0.05$). با کاهش آب نمونه های عسل، میزان ویسکوزیته افزایش می یابد [۱۹]. کمترین میزان ویسکوزیته مربوط به عسل بیولوژیک شوید بود که با سایر نمونه ها اختلاف معنی دار داشت ($P > 0.05$). عسل طبیعی شوید که کمترین میزان رطوبت و بیشترین میزان تبلور را داشتند از بیشترین میزان ویسکوزیته برخوردار بود و عسل بیولوژیک شوید که دارای میزان رطوبت بالایی هست، ویسکوزیته پایینی دارد ولی عسل طبیعی یونجه به دلیل اینکه میزان تبلور و کریستالیزاسیون بالایی داشت از ویسکوزیته بالاتری نسبت به سایر نمونه ها برخوردار بود. تفاوت در ویسکوزیته به عوامل مختلفی مانند منبع گرده، مقدار رطوبت و ترکیبات شیمیایی از جمله حضور کلوئیدها و کریستال های غالب بستگی دارد [۷]. با کاهش آب نمونه های عسل، میزان ویسکوزیته افزایش می یابد [۲۰]. اثر تغییر ۱ درصد رطوبت بر ویسکوزیته برابر اثر ۳/۵ درجه سلسیوس تغییر دما بر روی این پارامتر می باشد. کاهش مقدار ویسکوزیته عسل بر اثر دما به

کاهش اصطکاک مولکولی و نیروی هیدرودینامیکی نسبت داده شده است [۷].

۳-۳- pH

مقادیر pH در جدول ۱ نشان داده شده است. طبق استاندارد کدکس حداقل میزان اسیدیته مجاز ۴۰ میلی اکوی والان در کیلوگرم می باشد. کمترین میزان اسیدیته مربوط به عسل طبیعی شوید بود و بیشترین میزان اسیدیته مربوط به عسل بیولوژیک شوید بود که با سایر نمونه ها اختلاف معنی داری داشت ($P > 0.05$). اسیدیته آزاد بعنوان یکی از شاخصه های طراوت و تازگی عسل در نظر گرفته می شود [۱۶]. تحقیقات نسبتاً کمی روی ترکیب اسیدهای آلی در انواع مختلف عسل منتشر شده است. اسیدیته بالا می تواند نشان دهنده تخمیر قندهای عسل توسط مخمرها باشد. در طول تخمیر گلوکز و فروکتوز تبدیل به دی اکسیدکربن و الکل می شوند. سپس الکل در حضور اکسیژن هیدرولیز و تبدیل به اسید استیک شده که باعث افزایش اسیدیته عسل می شود [۱۵]. اسیدیته، عطر و طعم عسل را تحت تأثیر قرار می دهد که ممکن است باعث حضور اسیدهای آلی در عسل بویژه اسیدهای گلوکونیک، پیرویک، مالیک و سیتریک و یون های غیرآلی مانند فسفات، سولفات و کلرید باشد. تنوع اسیدیته نمونه های عسل ممکن است باعث تنوع در ترکیبات با توجه به فصل تولید باشد. نوع گل نیز در میزان اسیدیته تأثیر دارد [۱۶].

۳-۴- اسیدیته آزاد

مقادیر اسیدیته عسل های تولیدی مختلف در جدول ۱ آمده

Table 1 The compare of physico-chemical parameters of honey samples

Honey	Type	Moisture(%)	pH	Acidity (meq/kg)	Viscosity(poise)
Blank	Alfalafa	16.5± 0.05 ^{bc}	3.8± 0.05 ^{ab}	23.33± 2.3 ^b	361± 3.6 ^a
Natural	Dill	16± 0.5 ^c	4.2± 0.01 ^a	12± 0.05 ^b	102 ± 1.02 ^b
Process	Dill	16.75± 0.25 ^b	4.3 ± 0.05 ^a	14± 0.05 ^b	102.30± 1.02 ^b
Biologic	Dill	18± 0.2 ^a	3.6 ± 0.05 ^b	29.33± 0.5 ^a	91.40 ± 0.9 ^b

All values are the means of three replicates and are significantly different at $p < 0.05 \pm$ standard deviation

منشأ جغرافیایی و ویژگی های آب و هوایی محل تولید قرار می گیرد [۹]. مقدار ترکیبات فنولی عسل می تواند یک پارامتر خوب برای ارزیابی کیفیت و پتانسیل درمانی آن باشد [۱۹]. عسل های طبیعی شوید، پروسه ای و بیولوژیک میزان ترکیبات فنولی بالاتری نسبت به عسل پایه یونجه داشتند و این تحت تأثیر خواص دارویی عرق گیاهی شوید می باشد. عسل طبیعی شوید با داشتن مقدار (mg Galic acid/100g) ۲۷۴/۶۱ از این بابت دارای کیفیت بهتری نسبت به سایر نمونه های عسل هستند و از مقادیر ترکیبات فنولی بالایی برخوردار هستند.

۳-۵- میزان کل ترکیبات فنولی

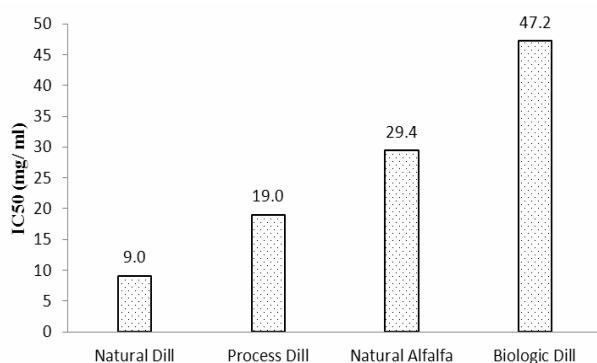
مقادیر کل ترکیبات فنولی در جدول ۲ آورده شده است. عسل طبیعی شوید دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی بوده و با سایر نمونه ها تفاوت معنی دار داشت ($P > 0.05$) و عسل طبیعی یونجه دارای کمترین میزان ترکیبات پلی فنولی ۵۹/۲۶ بود. یکی از نتایج وجود ترکیبات پلی فنولی در عسل، تغییر رنگ عسل بوده بطوریکه عسل شوید رنگ تیره تری داشت. غلظت و نوع مواد فنولی عسل های مختلف نیز متفاوت می باشد [۱۱]. میزان این ترکیبات به شدت تحت تأثیر نوع گل،

Table 2 The antioxidant activity and total phenolic compounds of honey sample

Hony	Type	Total phenolic compounds (mg Galic acid/100g)	antioxidant activity(%)
Blank	Alfalfa	59.26 ± 0.1 ^d	43.62 ± 0.1 ^b
Natural	Dill	247.61 ± 0.2 ^a	60.87 ± 0.1 ^a
Process	Dill	112.85 ± 0.1 ^b	56.15 ± 0.06 ^a
Biologic	Dill	87.33 ± 0.1 ^c	38.62 ± 0.1 ^b

All values are the means of three replicates and are significantly different at $p < 0.05 \pm$ standard deviation

آنتی اکسیدانی عسل پروسه‌ای گشنیز می‌تواند به علت میزان بالای ترکیبات فنولی آن‌ها باشد [۸]. در تحقیق انجام شده توسط سلحورزیان و همکاران (۱۳۹۴) نیز نشان داده شد که عسل سیب دارای بیشترین مقدار فنل تام و فعالیت آنتی اکسیدانی نسبت به دو نمونه دیگر (شامل عسل عصاره ریشه و گل‌های شیرین بیان و گل‌های منطقه) بود که به دلیل وجود ترکیبات موجود در آب سیب مورد استفاده زنبورها باشد [۱۲].

**Fig. 1** The compare of IC₅₀ for honey treatments**Fig 1** The compare of IC₅₀ for honey treatment

بر اساس محاسبات موجود در شکل ۱ عسل طبیعی شوید با میزان ۹ (میلی گرم بر میلی لیتر) کمترین میزان IC₅₀ را در بین سایر نمونه‌ها دارد. غلظت مهار ۵۰ درصد در عسل طبیعی شوید نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی عسل طبیعی شوید از سایر نمونه‌ها بیشتر است.

۳-۷- آزمون رنگ‌سنجی

جدول ۳ مقادیر آزمون‌های رنگ‌سنجی را نشان می‌دهد. در بین نمونه‌ها، عسل طبیعی شوید پارامتر رنگی *a بالاتر و مایل به رنگ قرمز بود و با بقیه نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$) بود. در پارامتر رنگی *b عسل طبیعی شوید بیشترین تمایل رنگی را به زرد دارند و با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت ($P > 0.05$) و کمترین پارامتر *b در

۳-۶- فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از روش

DPPH

درصد فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عسل در جدول ۲ نشان داده شده است. در میان عسل‌های تولیدی، عسل طبیعی و پروسه‌ای شوید بترتیب با مقدار ۶۰/۸۷ و ۵۶/۱۵ درصد دارای بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بود و با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت ($P > 0.05$). میزان بالای فعالیت آنتی اکسیدانی عسل طبیعی شوید به علت میزان بالای ترکیبات فنولی موجود در آن‌ها بود. فعالیت آنتی اکسیدانی عسل‌های طبیعی به حضور بسیاری از مواد مختلف مانند آنزیم‌ها، محصولات واکنش مایلارد، اسیدهای آلی، اسیدهای فنولیک، فلاوونوئیدها، اسیدهای آمینه، پپتیدها، اسیدآسکوربیک نسبت داده می‌شود [۱۱]. تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی بین انواع عسل به علت تفاوت مقدار آنتی اکسیدان‌های عسل به خصوص میزان ترکیبات فنولی آن‌ها می‌باشد [۱۱]. سوچا و همکاران (۲۰۱۰) ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی 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 نمونه‌ها بطور معنی‌داری متفاوت بود و فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌هایی با میزان ترکیبات فنولی بیشتر، بالاتر بود [۱۱]. آن‌ها همچنین گزارش کردند که رنگدانه‌ها (عمدتاً فلاوونوئیدها و کارتنوئیدها) به میزان قابل توجهی به افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عسل کمک می‌کند [۱۱]. گروه‌های بسیار واکنش‌پذیر مانند پلی فنول‌ها در گیاهان به عنوان آنتی اکسیدان و عوامل حفاظتی در برابر آسیب‌های مختلف عمل می‌کنند که ممکن است نقش مهمی در کنترل واکنش‌های اکسیداتیو در بدن انسان ایفاء کنند [۶]. ظرفیت آنتی اکسیدانی عسل نیز مانند سایر خصوصیات به منابع گل وابسته به عوامل فصلی و محیط زیست و روش‌های فرآوری عسل بستگی دارد [۱۹]. بنابر این میزان بالای فعالیت

میان عسل‌های بیولوژیک و عسل طبیعی یونجه مشاهده شده است که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشت ($P > 0.05$). اما با سایر نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار داشت ($P < 0.05$) و رنگ آنها به زرد بسیار روشن تمایل داشت. پارامتر رنگی L^* عسل طبیعی شوید اختلاف معنی‌داری با بقیه نمونه‌ها داشت ($P < 0.05$) هرچه مقدار عددی L^* به سمت صفر میل کند رنگ نمونه تیره تر می‌شود. رنگ عسل به مقدار زیادی به ترکیب شیمیایی آن به ویژه رنگدانه‌هایی مانند کلروفیل‌ها، کاراتنوئیدها، فلاونوئیدها و مواد معدنی بستگی دارد. رنگ تحت تاثیر روش تهیه، زمان و دمای نگهداری قرار می‌گیرد. عسل‌های طبیعی از لحاظ رنگ بسیار متغیر می‌باشند به طوری که رنگ آنها تقریباً از بی‌رنگ (عسل شبدرد) تا بسیار تیره (عسل گندم سیاه) متغیر می‌باشد. عسل تهیه شده از منابع گیاهی مختلف دارای ترکیبات و غلظت‌های مختلف رنگدانه (عمدتاً پلی فنولی و کاراتنوئیدی) می‌باشند [۶]. شدت رنگ به وجود

همین رنگدانه‌ها که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند بستگی دارد. شدت رنگ همچنین به محصولات واکنش مایلارد نیز مربوط می‌شود [۲۱ و ۲۰]. شدت رنگ نمونه‌های عسل با پارامتر L^* یک همبستگی معکوس نشان داد. بنابراین عسل طبیعی شوید با رنگ تیره‌تر دارای کمترین میزان L^* بود. شدت رنگ همچنین با پارامتر a^* همبستگی مثبتی نشان داد. در واقع هرچه میزان قرمزی نمونه بیشتر شود، شدت رنگ آن نیز بیشتر می‌شود [۱۹]. بنابراین عسل طبیعی شوید با داشتن بیشترین میزان a^* بیشترین شدت رنگ را داشت و به نسبت دارای خواص آنتی‌اکسیدانی و پلی فنولی بالایی نیز بود. بین پارامترهای رنگی، ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی ضریب همبستگی معنی‌داری ($r = 0.967$) وجود داشت [۲۲]. عسل‌های تیره تر دارای ترکیبات فنولی، فلاونها و فلاونوئیدهای بیشتر و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری بودند [۲۲].

Table 3. The compare of Colour characteristics of honey samples

Honey type	L*	a*	b*
Blank Alfalfa	73.71 ± 0.3^a	-13.03 ± 0.2^b	12.24 ± 0.8^c
Natural Dill	36.43 ± 0.2^b	7.48 ± 0.2^a	36.89 ± 0.2^a
Process Dill	69.35 ± 0.2^a	-11.52 ± 0.2^b	25.39 ± 0.2^b
Biologic Dill	79.33 ± 0.2^a	-12.09 ± 0.3^b	11.16 ± 0.7^c

All values are the means of three replicates and are significantly different at $p < 0.05 \pm$ standard deviation

۴- نتیجه گیری کلی

عسل طبیعی یونجه دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی برابر با ۴۳/۶۲ درصد بود و عسل پروسه‌ای به دلیل اضافه شدن خواص آنتی‌اکسیدانی عرق شوید فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری از عسل پایه داشت. عسل بیولوژیک نتایج مطلوبی نسبت به عسل پروسه‌ای و طبیعی نشان نداد. نتایج آزمون عسل پروسه‌ای تفاوت چشمگیری با عسل طبیعی شوید نداشت. تولید عسل پروسه‌ای می‌تواند یک روش مطمئن و موثر برای تولید عسل گیاهی با خواص دارویی باشد اما عسل بیولوژیک علاوه بر هزینه‌بر بودن، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به عسل طبیعی و پروسه‌ای بود. نمونه عسل طبیعی شوید تیره‌ترین عسل (به دلیل حضور ترکیبات فلاونوئید و کاراتنوئید) بوده و بالاترین میزان ترکیبات فنولی، ضد سرطانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داد.

۵- سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان (واحد خوراسگان) به دلیل حمایت‌های آزمایشگاهی در خصوص اجرای صحیح آزمایشات تشکر و قدردانی می‌نمایم.

۶- منابع

- [1] Ghasemi M. 2002. Therapeutic uses of veggies & fruites. Teyho publishing; p:104 (in Persian)
- [2] Codex Alimentarius Commission. 1989. Codex standards for sugars (Honey) supplement II to Codex Alimentarius. 111:17-20.
- [3] Sanford T. 1996. Moisture in honey. Cessing methods on honey quality in West Nepal. Apiculturacom. EPC 1514, Kathmandu, Nepal. Page:1-7.

- [14] Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J., Nacoulma O.G. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91:571-577.
- [15] Ajlouni S., Sugirapinyokul P. 2010. Hydroxymethyl furfural dehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chemistry*, 119:1000-1005.
- [16] Rameres M.A., Gonzales Novelo S.A., Saurduch E. 2000. Effect of temporary thermic treatment of honey on variation of quality of the same during storage. *Apimondia*, 35(4):162-170.
- [17] Nanda V., Sarker B., Sharma H., Bawa A. 2003. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16:613-619.
- [18] Nanda V., Sarker B., Sharma H., Bawa A. 2003. Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16:613-619.
- [19] Saxena S., Gautam-Sharma A. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118, 391-397.
- [20] Pichichero E., Canuti L., Canini A. 2009. Characterisation of phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89:609-616.
- [21] Miotto D. 2011. Elucidation of the components involved in the antioxidant activity of honey, Faculty of Biological Sciences, Brock University.
- [22] Ferreira I. C. F. R., Aires E., Barreira J. C. M., Estevinho L. M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114:1438-1443.
- [4] Iranian institute of standards & industrial research. 1997. Honey, properties and testing methods. Standard number: 92 (in Persian)
- [5] Krell R. 1996. Value-added Products From Beekeeping. FAO, United Rome.
- [6] Alvarez L.M. 2011. Honey proteins and their interaction with polyphenols, Faculty of Mathematic and Sciences, Brock University.
- [7] Ram A.K. 2011. Production of Spray-dried Honey Powder and Its Application in Bread, Agricultural and Mechanical College, Louisiana State University.
- [8] Alvarez -Suarez J.M., Tulipani S., Romandini S.E., Bertoli E., Bertoli M. 2010. Contribution of honey in nutrition and human health: a review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3:15-23.
- [9] Escurdo O., Silva L.R., Andrade P.B. 2012. Assessing Rubus honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chemistry*, 130:671-678.
- [10] Vela L., De-Lorenzo C., 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.
- [11] Socha R., Juszczak L., Pietrzyk S., Galkowska D., Fortuna T., Witczak T. 2011. Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International Journal of Food Science and Technology*, 46:528-534.
- [12] Salahorezian A., Abdolapour F., Esmaeili A., Sepahvand F., Azadpour M. 2016. Antioxidant activity and antimicrobial activity of two types of honey due to changes in bee ration compared to other honey produced in the Abastan region of Khorramabad city. *Journal of Lorestan University of Medical Sciences*, 17: 115-125.
- [13] Avila M., Crevillen A.G., Gonzalez M.C., Escarpa A., Hortiguela L.V., de Lorenzo Cametero C., Martin P., Ana R. 2006. Electroanalytical approach to evaluate antioxidant capacity in honeyd: proposal of an antioxidant, *Electroanal.* 18:1821-1826.

Physico-chemical characteristics and antioxidant activity of honey containing added Dill extract in the process and biological methods

Khedri, S. ¹, Goli, M. ^{1*}, Mortazaeinezhad, F. ²

1. Department of Food Science and Technology, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

2. Department of Horticulture, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran

(Received: 2018/12/22 Accepted: 2019/01/30)

many physicochemical and medicinal properties, depending on the herbaceous origin, geographic location, environmental factors, and honey bee species. In this study, the comparison of physicochemical characteristics and antioxidant activity of honey containing added Dill extract in the process and biological methods. Physicochemical tests including moisture, pH, acidity, viscosity, colorimetry, total phenolic compounds by Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity (DPPH) for Dill honey, processed and biological honey including Dill extract, and natural honey (control i.e., Alfalfa honey) were done. The results revealed that the highest antioxidant activity in natural honey was obtained (60.87%). Natural Alfalfa honey had antioxidant activity equal to 43.62%. Although the production of biological honey did not show favorable results with compared to natural honey, the results of processed honey did not significantly differ ($P < 0.05$). Hence the production of processed honey is an effective method for producing honey with different therapeutic properties. But biological honey, in addition to its high cost, has lower antioxidant properties than natural and processed honey. Darker honey samples had higher amounts of phenolic compounds, flavones, and flavonols and increased antioxidant activity.

Keywords: Dill extract, Processed & Biological honey, Phenolic compounds, Antioxidant activity, Physico-chemical properties

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