

تعیین میزان ترکیبات فنولی، فعالیت‌های آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی عسل سبلان

ابوالفضل کامکار^{۱*}، سارا خدابخشیان^۲

۱) گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران،

۲) دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

(دریافت مقاله: ۲۵ مرداد ماه ۱۳۹۵، پذیرش نهایی: ۱۱ مهر ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: عسل به عنوان ماده‌ای با خواص بیولوژیکی مختلف، از جمله اثرات آنتی اکسیدانی شناخته شده است. اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها آنتی اکسیدان‌های اصلی این محصول می‌باشند. اندازه‌گیری این ترکیبات می‌تواند به انتخاب عسل با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا کمک کند. هدف: در این مطالعه میزان کل ترکیبات فنولیک، محتوای تام فلاونوئیدی و فعالیت آنتی اکسیدانی هشت نمونه عسل سبلان بررسی شد، علاوه بر این چند آزمون کنترل کیفیت شیمیایی عسل از جمله: pH، اسیدیته، فعالیت دیاستازی (کیفی) و تشخیص وجود هیدروکسی متیل فورفورال (کیفی) نیز انجام گرفت. روش کار: مقدار کل ترکیبات فنولیک با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو، فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH و مهار رنگ بری بتاکاروتن، محتوای تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری گردید. از روش‌های ذکر شده در استاندارد شماره ۹۲ سازمان ملی استاندارد ایران جهت اندازه‌گیری پارامترهای فیزیکی شیمیایی عسل استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون ANOVA (one-way)، با استفاده از نرم افزار SPSS صورت گرفت. نتایج: محدوده مقادیر بدست آمده حاصل از آزمون‌ها عبارتست از: میزان ترکیبات فنولیک (۴۱/۵۸-۱۵/۷۱ mg معادل گالیک اسید در ۱۰۰ g عسل)، محتوای تام فلاونوئیدی (۱۳/۲۰-۲/۸۰ mg) معادل کوئرستین در ۱۰۰ g عسل، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH (۲۵/۹۴-۳۳/۱۹٪) و با روش مهار پراکسیداسیون بتاکاروتن-لینولئیک اسید (۶۹/۶۹-۸۵/۶۹٪)، pH (۳/۶۳-۳/۸۳)، اسیدیته آزاد (۲۰/۵۰-۱۱/۹۹ mEq/kg). فعالیت دیاستازی تمام نمونه‌ها به جز (نمونه یک) منفی شد، نتیجه تست HMF تمام نمونه‌ها مثبت گردید. نتیجه گیری نهایی: نمونه‌های مورد آزمون فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی از خود نشان دادند، نتایج آزمون‌های شیمیایی مطابق با استانداردهای جهانی بود به استثنای آزمون دیاستاز و HMF که می‌تواند به علت شرایط نامناسب فرآوری و نگهداری، حرارت دادن محصول، تازه نبودن عسل و غیره باشد.

واژه‌های کلیدی: عسل، DPPH، فعالیت آنتی اکسیدانی، محتوای تام فنولی

مقدمه

عسل یک ماده طبیعی شیرین است که به توسط زنبورهای عسل از شهد گل‌ها، ترشحات بخش‌های زنده گیاهان و یا مواد دفعی حشرات ناشی از مکیدن بخش زنده گیاهان تولید می‌شود (۲،۹).

عسل عمدتاً مخلوط پیچیده‌ای از کربوهیدرات‌ها (فروکتوز و گلوکز) است (حدود ۷۷-۷۹٪) و ترکیبات دیگری (حدود ۳٪) نظیر فنول‌ها، اسیدهای آلی، آمینو اسیدها، پروتئین‌ها، مواد معدنی، ویتامین‌ها، لیپیدها و غیره در آن وجود دارد (۳،۲۵). این بخش نه تنها خواص عملکردی متعددی از خود نشان می‌دهد بلکه با توجه به فلور گیاهی، عوامل محیطی و گونه‌های زنبور عسل متفاوت می‌باشند. برخی از ترکیبات از شهد یا گرده وارد عسل شده و مابقی توسط زنبور عسل در طول فرآیند تولید عسل در آن تشکیل می‌شوند (۲۳).

آنتی اکسیدان‌ها که از فعال‌ترین ترکیبات فیزیولوژیکی در عسل می‌باشند در حفاظت از موجودات زنده در برابر آسیب اکسیداتیو نقش مهمی دارند و از بروز انواع بیماری‌های مزمن مانند سرطان، بیماری قلب و عروق و دیابت جلوگیری می‌کنند. عسل دارای انواع آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی شامل گلوکز اکسیداز، کاتالاز، ال-آسکوربیک اسید،

فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، کاروتنوئیدها و اسیدهای آلی، آمینو اسیدها و پروتئین‌ها می‌باشد (۸). اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها دو ترکیب اصلی ایجاد کننده فعالیت آنتی اکسیدانی عسل می‌باشند که از واکنش اتواکسیداسیون جلوگیری کرده و اثر مهارکنندگی روی رادیکال‌های آزاد با مکانیسم‌های مختلف دارند (۱۳). مقدار آن‌ها به شدت تحت تأثیر عواملی نظیر منابع گل، فصل و عوامل محیطی می‌باشد، در این میان منشأ گیاهی عسل بیشترین تأثیر را بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی آن دارد در حالی که فرآوری و نگهداری عسل به مقدار جزئی در این مورد مؤثرند (۱۶، ۳).

با توجه به این که امروزه مصرف آنتی اکسیدان‌های طبیعی به علت اثرات بسیار مفید آن‌ها در درمان و پیشگیری بسیاری از بیماری‌ها رو به افزایش است، عسل می‌تواند به عنوان یک محصول دارای ترکیبات آنتی اکسیدانی طبیعی مورد استفاده قرار گیرد. انواع مختلف عسل حاوی ترکیبات فنولیک متفاوتی می‌باشند و اندازه‌گیری این ترکیبات در عسل‌های مختلف می‌تواند به انتخاب عسل با خاصیت آنتی اکسیدانی بالا کمک کند. در این مطالعه که برای اولین بار در ایران صورت می‌گیرد میزان ترکیبات فنولی موجود در هشت نمونه عسل سبلان و همچنین فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی رادیکالی آن‌ها بررسی گردید. علاوه بر این برخی پارامترهای فیزیکی شیمیایی نمونه‌های عسل مطابق با استاندارد ملی ایران تعیین گردیدند.



مواد و روش کار

عسل: در این مطالعه تعداد هشت نمونه عسل از تولید کنندگان عمده عسل که به صورت شاهد بودند تهیه و سپس در شرایط معمولی به آزمایشگاه منتقل شده و پس از آماده سازی‌های اولیه مطابق روش‌های معتبر برای هر کدام از فاکتورها مورد آنالیز و ارزیابی قرار گرفتند.

مواد شیمیایی: کلیه مواد و محلول‌های شیمیایی مورد استفاده در این مطالعه از درجه خلوص بالایی برخوردار بوده و توسط شرکت‌های معروف دنیا تولید شده بودند.

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل در حضور رادیکال DPPH: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل در حضور رادیکال آزاد ۲،۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (Sigma; DPPH) به روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. مقدار ۱/۲۵ ml از محلول عسل (۰/۰۵ g/ml) حل شده در آب مقطر با ۱/۵ ml محلول متانولی DPPH (۰/۰۴٪) مخلوط شد و به مدت ۹۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شد، سپس جذب در طول موج ۵۱۷ nm در برابر متانول - آب ۱:۱ به عنوان شاهد قرائت گردید. نمونه کنترل طبق روش بالا تهیه شد با این تفاوت که به جای محلول عسل، ۱/۲۵ ml متانول با ۱/۵ ml محلول DPPH مخلوط شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل به صورت درصد بازدارندگی بیان شد و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (۳۱).

$100 \times \left[\frac{A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{blank}}} \right]$ درصد به دام انداختن رادیکال آزاد

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل به روش مهار رنگ بری بتاکاروتن: برای انجام آزمایش ابتدا یک محلول پایه از بتاکاروتن - لینولئیک اسید (بتاکاروتن Merck K ۱۵۵۵۵۸۳۶)، لینولئیک اسید (Sigma I ۱۳۷۶) تهیه گردید: {۰/۰۲۵ g} بتاکاروتن در ۵۰ ml کلروفرم (Merck k۳۴۹۴۵۴۳۱) حل شد، ۲ ml از این محلول برداشت شد و به آن ۲۵ μl لینولئیک اسید و ۲۰۰ mg توئین ۴۰ (Riedel ۶۳۱۵۹)، اضافه گردید و کاملاً مخلوط شد، پس از جداسازی و تبخیر کلروفرم، ۱۰۰ ml آب مقطر اشیاع شده با اکسیژن همراه با تکان شدید به آن اضافه شد، در ادامه ۲/۵ ml از محلول پایه تهیه شده فوق به لوله آزمایش منتقل شد و ۳۵۰ μl محلول عسل (۰/۱ g/ml) به آن اضافه گردید. تمامی این مراحل در مورد محلول BHT (Sigma B۱۳۷۸) به عنوان استاندارد (کنترل مثبت) و شاهد (فقط حاوی ۳۵۰ μl اتانول) انجام شد. نمونه‌ها در حمام آب گرم ۵۰°C قرار داده شدند و جذب نوری نمونه‌ها در زمان‌های صفر و ۱۲۰ در طول موج ۴۷۰ nm قرائت شد (۱۰).

نمونه شاهد: به جای ۱۰۰ μl محلول عسل، ۱۰۰ μl آب مقطر اضافه شد و بقیه مراحل طبق روش بالا انجام گرفت.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک: مقدار کل ترکیبات فنولیک موجود در عسل به روش فولین - سیوکالتو (Merck ۳۲۵۲۵۶۲) مورد

بررسی قرار گرفت. ۱g از هر نمونه عسل در ۱۰ ml آب مقطر حل و توسط کاغذ فیلتر واتمن ۴ صاف شد. ۱۰۰ μl از این محلول با ۱ ml از فولین سیوکالتو ۱۰٪ نرمال، مخلوط گردید و به مدت پنج دقیقه تکان داده شد، پس از آن ۶۰۰ μl سدیم کربنات (Merck ۱۰۲۲۵۶۲) ۲۰٪ به محلول اضافه گردید و به مدت دو ساعت در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شد، سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ nm در برابر نمونه شاهد قرائت گردید (۵).

نمونه شاهد: به جای ۱۰۰ μl محلول عسل، ۱۰۰ μl آب مقطر اضافه شد و بقیه مراحل طبق روش بالا انجام گرفت. مقدار کل ترکیبات فنولیک از روی معادله خط رسم شده برای اسید گالیک، بر مبنای میلی گرم معادل اسید گالیک (Merck ۳۰۵۶۲)، بر ۱۰۰g عسل بیان گردید.

اندازه‌گیری محتوای تام فلاونوئیدی: محتوای تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم (Merck ۷۳۶۲۵۶۲) اندازه‌گیری شد. پنج سی سی محلول آلومینیوم کلراید (۲٪) با ۵ ml محلول عسل (۰/۱g/ml) مخلوط شد. جذب نوری مخلوط پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، در طول موج ۴۱۵ nm در مقابل بلانک خوانده شد. کوئرستین (Sigma Q: ۱۰۲۵) به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده شد. مقدار فلاونوئید بر مبنای میلی گرم معادل کوئرستین بر ۱۰۰g عسل بیان گردید (۱۲).

تعیین pH: مقداری عسل (حدود ۱۰g) را در یک بشر وزن و در ۷۵ ml آب مقطر بدون CO₂ حل شده و با کمک دستگاه pH متر که با بافر ۴ و ۷ کالیبره شده بود میزان pH را در دمای ۲۰°C بدست آمد.

تعیین اسیدیته آزاد: ۱۰g از نمونه عسل را وزن و در ۷۵ ml آب مقطر بدون CO₂ (تازه جوشیده و سرد شده) حل شد، محلول در مجاورت شناساگر فنل فتالین و یا با کمک pH متر تا رسیدن به PH (۸/۳) با سود ۰/۱ N تیتر شد. آزمایش شاهد برای آب مقطر و شناساگر انجام گرفت. نتیجه آزمون طبق فرمول اسیدیته بر حسب mEq/kg بیان شد.

$$= 100 \times N(V-V')/W$$

N: نرمالیتیه سود مصرفی، V: میلی لیتر سود مصرفی نمونه، V': میلی لیتر سود مصرفی شاهد، W: وزن نمونه به گرم

تعیین فعالیت دیاستازی (روش کیفی): ۱۰g از هر نمونه در ۲۰ ml آب حل و در دو لوله آزمایش هر یک ۱۰ ml از این محلول ریخته شد، به یکی از لوله‌ها (لوله نمونه)، ۱ ml محلول نشاسته ۱٪ اضافه گردید و در بن ماری با دمای ۴۵°C به مدت یک ساعت قرار داده شد سپس به آن ۱ ml محلول ید اضافه و رنگ حاصل با رنگ لوله شاهد مقایسه گردید.

لوله شاهد: بلافاصله ۱ ml محلول نشاسته و ۱ ml ید به محلول عسل اضافه شد.

تشخیص وجود هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) - روش کیفی: ۲۰g عسل را در ۲۰ ml آب سرد حل نموده، ۴ ml اتر اتیلیک به آن افزوده



جدول ۱. محتوای تام فنولی نمونه‌های عسل (میلی گرم معادل گالیک اسید/۱۰۰ عسل) (Mean±SD). *حروف بالانویس متفاوت بیانگر معنی دار بودن میانگین‌ها است.

sample	TP mgGAE/100g honey	sample	TP mgGAE/100g honey
۱	۳۳/۲±۰/۱۸ ^{ac}	۵	۳۰/۹۵±۰/۸۹ ^{ac}
۲	۳۳/۳۲±۰/۴۵ ^{ac}	۶	۱۵/۷۱±۰/۲۱ ^{ade}
۳	۳۰/۱۶±۰/۰۰ ^{ac}	۷	۲۳/۱۷±۰/۶۷ ^{adf}
۴	۳۴/۴۵±۰/۰۱ ^{ac}	۸	۴۱/۵۸±۳/۸۱ ^b

جدول ۲. محتوای تام فلاونوئیدی (میلی گرم معادل کوئرستین/۱۰۰ عسل) (Mean±SD). *حروف بالانویس متفاوت بیانگر معنی دار بودن میانگین‌ها است.

sample	TP mgGAE/100g honey	sample	TP mgGAE/100g honey
۱	۱۲/۷۷±۰/۱۱ ^a	۵	۱۳/۲±۰/۳۱ ^{b*}
۲	۱۱/۳۷±۰/۴۶ ^a	۶	۳/۸±۰/۵۳ ^a
۳	۱۱/۸۳±۰/۰۶ ^a	۷	۱۱/۰۴±۱/۲۶ ^b
۴	۱۰/۶۷±۰/۳۳ ^a	۸	۱۲/۳۸±۱/۲۶ ^b

جدول ۳. pH و اسیدیته آزاد (mEq/kg) نمونه‌های عسل (Mean±SD). *حروف بالانویس متفاوت بیانگر معنی دار بودن میانگین‌ها است.

sample	pH	Acidity (mEq/kg)
۱	۳/۶۳±۰/۰۳۵ ^a	۲۰/۵±۳/۵۴ ^{a*}
۲	۳/۸۲±۰/۰۳۵ ^b	۱۲/۷۴±۳/۱۸ ^b
۳	۳/۸۳±۰/۰۳۵ ^b	۱۱/۹۹±۲/۱۳ ^b
۴	۳/۷۵±۰/۰۴۹ ^b	۱۴/۹۹±۲/۱۳ ^{ab}
۵	۳/۷۳±۰/۰۳۵ ^b	۱۷/۹۹±۲/۱۳ ^a
۶	۳/۸۲±۰/۰۳۵ ^b	۱۲/۷۴±۱/۰۶ ^b
۷	۳/۸±۰/۰۳۵ ^b	۱۳/۴۹±۲/۱۳ ^b
۸	۳/۷۶±۰/۰۶۹ ^b	۱۴/۲۴±۳/۴۱ ^b

مهار پراکسیداسیون بتاکاروتن - لینولئیک اسید: در این آزمون از BHT به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. اثر مهارتی نمونه‌ها به درصد گزارش و با فعالیت آنتی اکسیدانی استاندارد مقایسه گردید. محلول‌های عسل نسبت به محلول استاندارد عملکرد نسبتاً ضعیف‌تری از خود نشان دادند. درصد بازدارندگی نمونه‌های عسل و استاندارد در نمودار ۲ نشان داده شده است. میانگین درصد بازدارندگی نمونه‌ها ± انحراف معیار به ترتیب برای: نمونه یک (۸۰/۱۶±۶/۰۵)، نمونه دو (۸۰/۰۸±۴/۴۷)، نمونه سه (۷۹/۶۹±۱/۱۷)، نمونه چهار (۷۸/۳۶±۰/۸۹)، نمونه پنج (۸۴/۶۰±۴/۹۶)، نمونه هفت (۷۷/۵۶±۸/۲۸)، نمونه هشت (۸۵/۶۹±۱/۱۷) BHT (۹۷/۵±۳/۵۴) بدست آمد. براساس اطلاعات موجود نمونه شماره هشت پس از BHT دارای بیشترین اثر مهارتی در اکسیداسیون اسید لینولئیک در سیستم بتا کاروتن - لینولئیک بوده و نمونه شماره شش نسبت به بقیه موارد عملکرد ضعیف‌تری از خودش نشان داد. در آزمون‌های تعیین همبستگی، همبستگی منفی، معکوس و متوسطی بین آزمون‌های ممانعت از اکسیداسیون اسید لینولئیک بتا کاروتن و DPPH

و به آرامی به هم زده و مخلوط گردید، قسمت اتری را در یک بشر کوچک انتقال داده و اجازه داده شد تا تبخیر شود باقیمانده تبخیر را در ۱۰ ml اتر حل کرده و به ۲ ml از این عصاره اتری ۲ ml محلول ۱٪ رزورسینول در اسید کلریدریک غلیظ اضافه شد. هرگاه بلافاصله رنگ صورتی در قسمت اسیدی ظاهر شود نتیجه مثبت بوده و دلیل وجود قند اینورت در نمونه است. این رنگ صورتی پس از ۲۰ دقیقه تیره و تبدیل به رنگ قرمز آلبالویی در حد فاصل دو قسمت اتری و اسیدی می‌شود.

آزمون‌های آماری مورد استفاده در تحلیل نتایج: پس از جمع‌آوری داده‌ها، یافته‌ها در قالب جداول آماری ارائه گردید. برای بررسی نرمال بودن توزیع متغیرهای مورد بررسی از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف Kolmogorov-Smirnov test استفاده شد، برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آزمون آنالیز واریانس و تست تکمیلی توکی استفاده شد. سطح معنی‌دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

فعالیت آنتی اکسیدانی در حضور رادیکال DPPH: رادیکال DPPH با

آنتی اکسیدان‌های دهنده هیدروژن، واکنش داده و رنگ محلول از بنفش تیره به زرد روشن تبدیل می‌شود، هرچه فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه بیشتر باشد تغییر رنگ محلول مشهودتر و عدد جذب در طول موج ۵۱۷nm کمتر خواهد بود. نتایج آزمون به صورت فعالیت نسبی در برابر کنترل ارزیابی گردید و به درصد گزارش شد.

درصد فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها در نمودار ۱ ارائه شده است. نتایج بدست آمده بصورت میانگین ± انحراف معیار برای نمونه‌های مختلف عسل گزارش شد. براساس اطلاعات بدست آمده نمونه‌های عسل مورد مطالعه از نظر فعالیت ضد رادیکالی دارای محدوده (۲۳/۱۹±۷/۷۲) الی (۹۴/۲۵±۱/۲۵) بودند که از میان آن‌ها نمونه شماره شش و هفت دارای کمترین و نمونه شماره هشت دارای بیشترین میزان فعالیت آنتی رادیکالی بودند. در میان نمونه‌های مورد مطالعه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بعضی از آنها نظیر نمونه‌های شماره یک و دو و از طرف دیگر نمونه سه و چهار دارای فعالیت آنتی رادیکالی تقریباً برابر بودند.

براساس آنالیزهای آماری، فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه هشت با نمونه‌های یک، دو، شش، هفت متفاوت بود ($p < 0.05$).

نمونه هفت کمترین فعالیت بازدارندگی رادیکال آزاد را نشان داد و از این نظر اختلاف آماری معنی‌داری با سایر نمونه‌ها داشت ($p < 0.05$). آزمون تعیین همبستگی، همبستگی مثبت، مستقیم و شدیدی بین ترکیبات کل فنولی و تست DPPH نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار بود ($p = 0.02, R = +0.77$), همچنین، همبستگی مثبت، مستقیم و ضعیفی بین آزمون‌های فلاونوئیدها و DPPH مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p = 0.34, R = +0.39$).



از نظر آماری معنی‌دار بود ($p=0/02$, $R=+0/67$).

محتوای تام فلاونوئیدی: محتوای تام فلاونوئیدی با استفاده از معرف کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. کوئرستین به عنوان استاندارد برای رسم منحنی کالیبراسیون استفاده گردید و نتایج بر مبنای میلی گرم معادل کوئرستین در ۱۰۰g عسل گزارش شد (جدول ۲). محتوای تام فلاونوئیدی نمونه‌های مختلف عسل دارای محدوده ۳/۸۰ الی ۱۳/۲۰mg کوئرستین/g ۱۰۰ عسل بوده ولی میزان ترکیبات فلاونوئیدی نمونه شش به صورت معنی‌داری کمتر از سایر نمونه‌ها می‌باشد ($p<0/05$).

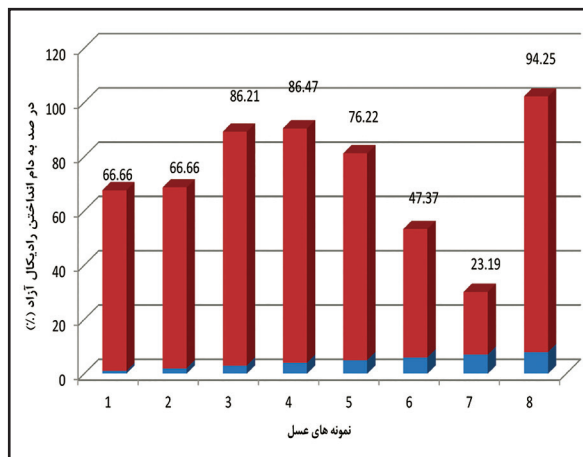
کیفیت شیمیایی عسل: pH، اسیدیته آزاد، تعیین فعالیت دیاستازی (کیفی)، تشخیص وجود هیدروکسی متیل فورفورال (کیفی)، از جمله پارامترهایی است که مورد آزمون قرار گرفتند. میانگین داده‌های بدست آمده مربوط به pH و اسیدیته آزاد هشت نمونه عسل مورد آزمون، به ترتیب: ۳/۷۶، ۱۴/۸۳ (mEq/kg) می‌باشد. بیشترین و کمترین میزان pH به ترتیب مربوط به عسل‌های نمونه سه و یک می‌باشد. اختلاف آماری معنی‌داری بین pH نمونه یک با سایر نمونه‌ها وجود دارد ($p<0/05$).

براساس اطلاعات موجود در جدول ۳ بیشترین و کمترین میزان اسیدیته به ترتیب مربوط به نمونه‌های یک و سه بود. بین اسیدیته نمونه یک با نمونه‌های دو، سه، شش، هفت و هشت اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده گردید ($p<0/05$). تفاوت معنی‌داری بین اسیدیته نمونه چهار با سایر نمونه‌ها دیده نشد ($p>0/05$). تست فعالیت دیاستازی تمام نمونه به جز (نمونه شماره یک)، منفی شد و تست HMF در تمام نمونه‌ها مثبت گردید.

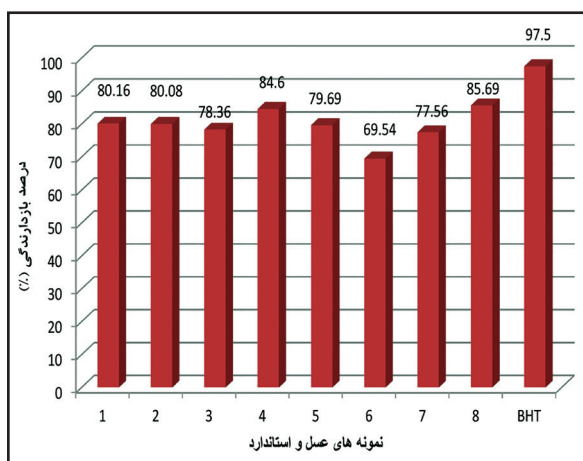
بحث

آنتی‌اکسیدان‌ها از فعال‌ترین ترکیبات فیزیولوژیک عسل می‌باشند. عسل حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی شامل گلوکز اکسیداز، کاتالاز، آل‌آسکوربیک اسید، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، کارتنوئیدها، اسیدهای آلی، آمینواسیدها و پروتئین‌ها می‌باشد. تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی انواع عسل به مقدار و نوع آنتی‌اکسیدان‌های آن به خصوص ترکیبات فنولیک نسبت داده می‌شود (۹).

Socha و همکارانش در سال ۲۰۱۱، فعالیت آنتی‌اکسیدانی و پروفایل اسیدهای فنولیک هشت نمونه عسل مختلف لهستان را مورد بررسی قرار دادند معلوم گردید که با افزایش میزان ترکیبات فنولی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل بالا می‌رود (۲۷) مشابه این یافته Silici و همکارانش در سال ۲۰۱۰، با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولیک ۵ نمونه عسل از ترکیه به این نتیجه رسیدند که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل مورد مطالعه و میزان ترکیبات فنولی آن‌ها ارتباط قوی وجود دارد (۲۵). مطالعه دیگری نیز در این زمینه توسط Chua و همکاران در سال ۲۰۱۳ انجام شد که، در آن میزان ارتباط فعالیت آنتی‌اکسیدانی با



نمودار ۱. فعالیت آنتی رادیکالی نمونه‌های عسل سیلان در آزمون DPPH در شرایط برون تنی.



نمودار ۲. درصد باز دارندگی نمونه‌های عسل از پراکسیداسیون بتا کاروتن.

مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/21$, $R=-0/50$) از طرف دیگر همبستگی منفی، معکوس و ضعیفی بین آزمون‌های فلاونوئیدها و ممانعت از اکسیداسیون اسید لینولئیک بتا کاروتن مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/40$, $r=-0/35$). همبستگی منفی، معکوس و بسیار ضعیفی بین آزمون‌های ترکیبات کل فنولی و تست ممانعت از اکسیداسیون اسید لینولئیک بتا کاروتن مشاهده شد که از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p=0/72$, $R=-0/15$).

مقدار کل ترکیبات فنولیک: محتوای تام فنولی نمونه‌های عسل به روش فولین سیوکالتیو و بر مبنای ترکیب استاندارد گالیک اسید اندازه‌گیری شد. میانگین نتایج \pm انحراف معیار در جدول ۱ ارائه شده است. محتوای تام فنولی نمونه‌های عسل دارای محدوده ۱۵/۷۱mg الی ۴۱/۵۸mg گالیک اسید/g ۱۰۰ عسل بود.

با توجه به نتایج به دست آمده، نمونه هشت بیشترین مقدار ترکیبات فنولیک را دارا بود و از این لحاظ تفاوت آماری معنی‌داری با سایر نمونه‌ها داشت ($p<0/05$). در آزمون تعیین همبستگی، همبستگی مثبت، مستقیم و شدیدی بین آزمون‌های ترکیبات کل فنولی و فلاونوئیدها مشاهده شد که



۲۰۱۲ تأثیر انبار مانی روی قدرت آنتی اکسیدانی و محتوای فنولی در نمونه‌های مختلف عسل را در دوره‌های شش ماهه به مدت دو سال مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که پس از یکسال انبارمانی، محتوای فنولیک و فلاونوئیدی نمونه‌های عسل به ترتیب ۹۱/۸٪ و ۴۵/۶٪ نسبت به مقدار اولیه کاهش یافت و فعالیت آنتی اکسیدانی نیز پس از دو سال ۳۰٪ کاهش پیدا کرد (۲۴).

در ایران بیشتر، کیفیت شیمیایی عسل مورد تحقیق قرار گرفته و خیلی کمتر به بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی و تعیین مقدار ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی پرداخته شده است. ولی در این مطالعه پتانسیل آنتی اکسیدانی نمونه‌های عسل سیلان به دو روش DPPH و مهار بی‌رنگ شدن بتاکاروتن در سیستم بتاکاروتن-لینولئیک اسید مورد ارزیابی قرار گرفت. اساس روش واکنش بتاکاروتن غیر اشباع با رادیکال آزاد تولید شده در نتیجه تشکیل هیدروپراکسید از لینولئیک اسید است که به دنبال آن ساختار بتاکاروتن تغییر یافته و رنگ نارنجی خود را از دست می‌دهد. حضور آنتی اکسیدان‌ها می‌تواند از گسترش بی‌رنگ شدن بتاکاروتن با خنثی کردن رادیکال لینولئات و دیگر رادیکال‌ها در سیستم، جلوگیری کند (۲۸).

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های مورد آزمون در مطالعه حاضر به روش‌های DPPH و CBI به ترتیب دارای محدوده ۹۴/۲۵-۲۳/۱۹ و ۶۹/۵۴-۸۵/۶۹٪ بود.

مطالعات انجام شده در کشورهای دیگر نظیر ایتالیا و لهستان با استفاده از آزمون‌های DPPH و تعیین فعالیت آنتی اکسیدانی نشان داد که فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد رادیکالی نمونه‌های عسل مورد مطالعه ما دارای قدرت مهار رادیکالی و آنتی اکسیدانی بیشتری نسبت به این دو گروه در دو کشور مختلف بودند (۱۸، ۲۷).

به منظور ارزیابی تأثیر تیمار حرارتی، نوع عسل، منشأ گیاهی و منطقه جغرافیایی روی قدرت آنتی اکسیدانی عسل در نقاط مختلف دنیا مطالعاتی صورت پذیرفت که نتایج آن‌ها نشان داد که تیمار حرارتی با توجه به نوع عسل روی قدرت آنتی اکسیدانی عسل تأثیر متفاوتی دارد به عنوان مثال در عسل ااقیا بدون تغییر، در عسل کاهش، و در عسل لیمو و گندم افزایش می‌یابد که از جمله دلایل آن تشکیل ترکیبات پلیمری ملانوییدی به دنبال واکنش میلارد ذکر شده است. فعالیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی در نمونه‌های عسل مورد مطالعه Alzahrani و همکاران در سال ۲۰۱۲ با توجه به منطقه جغرافیایی و منشأ گیاهی متفاوت بود (۳، ۴، ۱۵، ۳۰).

مطالعات قبلی نشان داده که شرایط استخراج و نگهداری عسل روی pH عسل مؤثر بوده و تغییر pH بر پایداری، بافت، زمان انبارمانی آن اثر می‌گذارد. در این ارتباط کاویا و همکاران میزان تغییرات pH و اسیدیته را پس از ۲۰ ماه انبارمانی بررسی و بیان داشتند، میانگین pH نمونه‌ها پس از این دوره افزایش و اسیدیته کاهش یافت (۶، ۲۹).

لازم به توضیح است که اسیدیته عسل عمدتاً به علت حضور اسیدهای

ترکیبات فنولیک و فلاونوئید سه نمونه عسل مالزیایی موردپایش قرار گرفت، نتایج در اینجا نیز بیانگر این واقعیت بود که عسل‌هایی که دارای ترکیبات فنلی بالایی هستند در آزمون‌های تعیین قدرت آنتی اکسیدانی از کارایی و قدرت بیشتری برخوردار هستند (۷).

در مطالعه ما، با توجه به اطلاعات موجود در نمودار ۱، نمونه هشتم دارای بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی بوده و میزان ترکیبات فنولیک آن از بقیه بیشتر می‌باشد ($p < 0.05$) و نمونه‌های دیگر که کارایی آنتی اکسیدانی کمتری را در تست‌های آنتی اکسیدانی از خود نشان داده بودند دارای ترکیبات فنولی کمتری می‌باشند.

از عوامل اصلی مؤثر در فعالیت آنتی اکسیدانی عسل فلاونوئیدها و اسیدهای فنولیک هستند (کوئرستین، کامپفرول، گالاتین، نارینژین، لوتئولین، پنوکمترین) از جمله فلاونوئیدها و (کافئیک اسید، سینامیک اسید، گالیک اسید، کوماریک، کلروژنیک) از جمله اسیدهای فنولیک موجود در عسل می‌باشند. این ترکیبات در طعم و رنگ عسل نیز مؤثرند، به گونه‌ای که عسل‌های تیره‌تر، حاوی ترکیبات فنولیک بیشتری هستند (۱۰، ۱۸، ۲۰).

Ferreres و همکاران در سال ۱۹۹۴ پروفایل فلاونوئیدی ده نمونه عسل Heather پرتغالی را به روش HPLC مورد آنالیز قرار دادند، (پینوکمترین، پینوبانکسین) از فلاونون‌ها و (کرسین، گالاتین) از فلاون‌ها بیشترین مقدار را نسبت به سایر فلاونوئیدها در نمونه‌های عسل مورد آزمون دارا بودند (۱۱).

از جمله عوامل دیگری که هم روی مقدار و هم روی نوع ترکیبات فنلی عسل مؤثر می‌باشد می‌توان به نوع فلور گیاهی منطقه پرورش زنبور عسل اشاره نمود که این مسئله در مطالعه Petrus و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داده شد در این مطالعه ترکیبات فلاونوئیدی نظیر گالاتین، کامپفرول، کوئرستین، لوتئولین در همه نمونه‌های مورد آزمون وجود داشت (۱۹). در مطالعه دیگری توسط Perna و همکارانش در سال ۲۰۱۳ تأثیر منابع گیاهی و فصل و عوامل محیطی روی میزان ترکیبات فنلی پنج نمونه عسل از انواع اکالیپتوس، شاه بلوط، و شکوفه مرکبات در کشور ایتالیا مطالعه شد. آن‌ها به این نتیجه رسیدند که منشأ گیاهی عسل بیشترین نقش را از نظر میزان ترکیبات فنلی دارا می‌باشد. در ضمن فرآوری و نگهداری عسل از این نظر کمترین سهم را به خودشان اختصاص می‌دهند (۱۸).

در مطالعه پنج نمونه عسل با منشأ گیاهی مختلف در کشور تونس میزان ترکیبات فنولیک در محدوده ۱۱۹/۴۹-۳۲/۷ قرار داشت، ضمن اینکه عسل نعنای دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولیک، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی نسبت به سایر نمونه‌ها بود. در مطالعه نمونه‌های عسل ااقیا از کشور مالزی طی یک دوره دو ساله، نمونه‌هایی که در ابتدای سال (ژانویه) سال جمع‌آوری شده بودند دارای رنگ تیره‌تر، قدرت آنتی اکسیدانی بالاتر و مقدار ترکیبات فنولیک بیشتری بودند (۱۷). Saric و همکاران در سال



(۱۴، ۱۵). در مطالعه‌ای که در مورد کیفیت شیمیایی نمونه‌های عسل‌های تهران صورت گرفت میانگین pH ۳/۸ و میانگین اسیدیته ۱/۳ گزارش شد، ۲۳/۴٪ از نمونه‌ها دیاستاز مثبت بودند. ۱۰٪ نمونه‌ها HMF مثبت داشتند (۱۳).

نتیجه‌گیری: تمامی نمونه‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی را نشان دادند. نتایج بدست آمده مربوط به pH و اسیدیته آزاد، مطابق با مقادیر گزارش شده در استاندارد ملی کشور و کدکس بود. شرایط نامناسب نگهداری و فرآوری، تیمار حرارتی می‌تواند از علل نتایج نامطلوب تست دیاستاز و HMF باشد.

پیشنهادات: بررسی و مقایسه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل مربوط به مناطق جغرافیایی مختلف با شرایط آب و هوایی متفاوت ایران پیگیری و بررسی استفاده از عسل به عنوان ماده‌ای با قابلیت‌های بالای آنتی‌اکسیدانی در محصولات غذایی و صنعت دارویی.

تشکر و قدردانی

نگارندگان از حمایت‌های مالی معاونت پژوهشی دانشگاه تهران در انجام این طرح قدردانی و سپاس خود را ابراز می‌نمایند.

References

1. Ajlouni, S., Sujrapinyokul, P. (2009) Hydroxy-methyl furfuraldehyde and amylase content in Australian honey. *Food Chem.* 119: 1000-1005.
2. Alonso-Torre, S.R., Cavia, M.M., Fernandez-Muino, M.A., Moreno, G., Huidobro, J.F., Sanchó, M.T. (2006) Evaluation of acid phosphatase activity of honey from different climate. *Food chem.* 97: 750-757.
3. Alvarez-Suarez, J.M.S., Tulipani, D., Díaz, Y., Estevez, S., Romandini, F., Giampieri, E., Damiani, P., Astolfi, S., Bompadre, M., Battino, M. (2010) Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, content and other chemical compounds, *Food Chem Toxicol.* 48: 2490-2499.
4. Alzahrani, H.A., Alsabehi, R., Boukraâ, L., Abdellah, F., Bellik, K. (2012) Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules.* 17: 10540-10549.
5. Beretta, G., Granata, P., Ferrero, M., Orioli, M., Maffei Facino, R. (2005) Standardization of an-

الی نظیر اسید گلوکونیک، اسید پیروویک، اسیدمالئیک و یون‌های غیر آلی مانند سولفات، فسفات و کلرید می‌باشد. تفاوت در اسیدیته عسل‌های مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت در منشأ گیاهی نیز باشد Ramirez و همکاران در سال ۲۰۰۰ دو نوع عسل مکزیکی را به مدت ۳،۶،۹،۱۵ دقیقه (۵۵°C) حرارت دادند، سپس به مدت سه و نیم ماه در دمای اتاق نگهداری کردند. پس از طی دوره آزمایشات کنترل کیفی انجام گرفت نتایج نشان داد که حرارت باعث تغییر پارامترهای کیفیت می‌شود ضمن اینکه عکس العمل عسل‌های مورد آزمون در طول دوره نگهداری متفاوت بود (۲۶، ۲۱). استاندارد جهانی pH عسل دارای محدوده ۴/۵-۳/۲ (میانگین ۳/۳۹) و برای اسیدیته در طرح اروپایی حداکثر تا ۴۰ meq و در طرح کدکس حداکثر تا ۵۰ meq می‌باشد (این افزایش به خاطر وجود عسل‌هایی است که اسیدیته طبیعی بالاتری دارند). براین اساس و با توجه به مقادیر pH و اسیدیته نمونه‌های مورد آزمون در مطالعه حاضر، که در جدول ۲ به آن اشاره شده است، نتایج بدست آمده مطابق با مقادیر گزارش شده در استاندارد ملی کشور و کدکس می‌باشد (۲۶).

فعالیت دیاستازی شاخص تعیین اعمال یا عدم اعمال فرآیند حرارتی در عسل است، این آنزیم حساس به حرارت‌دهی و شرایط نگهداری می‌باشد. نوع گیاه مورد استفاده توسط زنبور عسل بر میزان محتوای دیاستاز عسل به طور قابل توجهی تأثیر دارد (۲۶).

به منظور تسهیل فرآیند و حفظ کیفیت، عسل تازه معمولاً حرارت داده می‌شود اما تیمار حرارتی بیش از اندازه منجر به شکل‌گیری ۵-هیدروکسی متیل فورفور آلدهید (HMF) گشته و از کیفیت عسل می‌کاهد. این ترکیب می‌تواند در اثر واکنش میلارد یا از طریق آبیگری تحت شرایط اسیدی ایجاد شود. این ترکیب طی فرآیند حرارتی در اثر خروج مولکول آب از اسید هگزوزها مثل فروکتوز و گلوکز در شرایط کاتالیزه شده حاصل می‌گردد (۲۹). عوامل متنوعی در شکل‌گیری HMF نقش دارند به طوری که تیمار حرارتی عسل تنها عامل تأثیرگذار نمی‌باشد، بلکه درجه حرارت، مدت زمان حرارت‌دهی، شرایط نگهداری، ترکیب عسل، pH، منابع گیاهی و گل نیز نقش دارند (۱). مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۵ اثر تیمار حرارتی و انبارمانی را بر میزان HMF و فعالیت دیاستازی انجام گردید و معلوم شد که تیمار حرارتی تأثیری بر فعالیت دیاستازی نداشته اما انبارمانی سبب کاهش آن شده است و میزان HMF در اثر تیمار حرارتی و همچنین انبارمانی افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته است (۳۰، ۲۲). در مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۰ میزان HMF نمونه‌های عسل مالزیایی را پس از ۶ و ۲۴ ماه انبارمانی اندازه‌گیری شد و معلوم گردید، میزان HMF پس از دو سال انبارمانی ۱۰ برابر افزایش داشته است. تغییرات آنتی‌اکسیدانی و تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال چهار نمونه عسل قبل و بعد از تیمار حرارتی (۶۰ دقیقه در بن ماری با دمای بالای ۹۰°C) مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج حاصله، افزایش معنی‌داری در میزان HMF بعد از اعمال حرارت به نمونه‌ها مشاهده گردید



- tioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/ fluorimetric assays and chemometrics. *Anal Chim Acta*. 533: 185-191.
6. Cavia, M.M., Fernandez-Munio, M.A., Alonso-Torre, J.F., Maria, T. (2007) Evaluation of acidity of honeys from continental climate: Influenced granulation. *Food Chem*. 100: 1728-1733.
 7. Chua, L.S., Rahman, N.L.A., Adnan, N.A. (2013) Antioxidant activity of three honey sample in relation with their biochemical components. *J Anal Methods Chem*. 2013: 1-9.
 8. Dong, R., Zheng, Y., Xu, B. (2013) Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food Bioprocess Tech*. 6: 762-770.
 9. Escuredo, O., Silva, L.R., Valentao, P., Seijo, M.C., Andrade, P.B. (2012) Assessing Rubus Honey Value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chem*. 130: 671-678.
 10. Ferreira, I.C.F.R., Aires, E., Barreira, J.C.M., Estenovinho, M. (2009) Antioxidant activity of Portuguese honey sample: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chem*. 114: 1438-1443.
 11. Ferreres, F., Andrad, P., Tomas-Barberan, F., Soler, C. (1994) A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. *Apidologie*. 25: 21-30.
 12. Isla, M.I, Craig, R., Ordonez, C., Zampini, J., Sayago, E., Alvarez, V. (2011) Physico chemical and bioactive properties of honey from Northwestern Argentina. *LWT-Food Sci Technol*. 44: 1922-1930.
 13. Kamkar, A., Jahed Khaniki, Gh.R., Golestani, M.A., Zygham Monfared, M.M. (2012) Evaluation of physico- chemical properties of distributed honeys in Tehran city. *Vet J (Pajouhesh & Sazandegi)*. 95: 10-17
 14. Khalil, M.I., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. (2010) High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food Chem Toxicol*. 48: 2388-2392.
 15. Kowalski, S. (2013) Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chem*. 141: 1378-1382.
 16. Lachman, J., Orsak, M., Hejtrnáková, A., Castano-Tostado, E. (2012) Quality parameters and antioxidant and antibacterial properties of some Mexican honeys. *J Food Sci*. 77: C121-C127.
 17. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Gan, S.H. (2013) Tow-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey. *Molecules*. 18: 14695-14710.
 18. Perna, A., Simonetti, A., Intaglietta, I., Gambacorta, E. (2013) Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of southern Italy. *J Life Sci*. 7: 428-436.
 19. Petrus, K., Schwartz, H., Sontag, G. (2011) Analysis of flavonoids in honey HPLC coupled with coulometer electrode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*. 400: 2555-63.
 20. Pontis, J.A., da Costa, L.A.M.A., da Silva, S.J.R., Flach, A. (2014) Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Sci Technol*. 34: 69-73.
 21. Ramirez, C.M.A., Gonez à Lez, N.S.A., Sauri, D.E. (2000) Effect of the temporary thermic treatment of honey on variation of the quality of same during storage. *Apiacta*. 35: 162-170.
 22. Sahinler, N., Gul, A. (2005) Effect of heating and storage on honey Hydroxymethylfurfural and diastase activity. *J Food Technol*. 3: 152-157.
 23. Sant'Ana, L.D.O.O., Sousa, J.P., Salgueira, F.B., Lorenzon, M.C.A., Castro, R.N. (2012) Characterization of monofloral honeys with multivariate analysis of their chemical profile and antioxidant activity. *J Food Sci*. 77: C135-C140.
 24. Šarić, G., Marković, K., Major, N., Krapan, M., Hruška, M., Vahčić, N. (2012) Changes of antioxidant activity and phenolic content in acacia and multifloral honey during storage. *Food Technol. Biotechnol*. 50: 434-441.
 25. Silici, S., Sagic, O., Ekici, L. (2010) Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial



- crobial activities of Rhododendron honeys. Food Chem. 121: 238-243.
26. Silva, L.R., Videria, R., Monteiro, A.P., Valen-
tao, P., Nalepka, K. (2009) Physicochemical
characteristics and mineral content. Microchem
J. 93: 73-77.
 27. Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Galkows-
ka, D., Fortuna, T., wiczak, T. (2011) Phenol
profile and antioxidant properties of polish hon-
eys. Int J Life Sci. 7: 428-436.
 28. Sowndhararajan, K., Joseph, M.J., Arunacha-
lam, K., Manian, S. (2010) Evaluation of
Merremia tridentate (L.) Hallier. F. for in vitro an-
tioxidant activity. Food Sci Biotech. 19: 663-669.
 29. Terrab, A., Diez, M.J., Heredia, F.J. (2002) Char-
acterization of Moroccan unifloral honeys by
their physicochemical characteristics. Food
Chem. 79: 373-379.
 30. Turkmen, N., Sari, F., Poyrazoglu, E.S., Velio-
glu, Y.S. (2006). Effect of prolonged heating on
antioxidant activity and colour of honey. Food
Chem. 95: 653-657.
 31. Vela, L., de Lorenzo, C., Perez, R.A. (2007)
Antioxidant capacity of Spanish honeys and its
correlation with polyphenol content and other
physicochemical properties. J Sci Food Agric.
87: 1069-1075.



Determination of the total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of Sabalan Honey

Kamkar, A.^{1*}, Khodabakhshian, S.²

¹Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

²Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

(Received 15 August 2016, Accepted 2 October 2016)

Abstract:

BACKGROUND: Honey is recognized as having different biological properties including antioxidant effects. Phenolic acids and flavonoids are the main antioxidant in this apriary product. **OBJECTIVES:** In this study eight samples of Sabalan honey were screened to evaluate the antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content. **METHODS:** Antioxidant activity of honey samples was determined by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and β -carotene bleaching assay, total phenolic and flavonoid by Folin-Ciocalteu and Aluminium chloride methods, in addition, in all samples, some physicochemical parameters (pH, acidity, diastase activity, existence or nonexistence of HMF) were measured according to Iranian National Standardization N92. Data were analyzed using ANOVA (one-way). **RESULTS:** Total phenolic and flavonoid content of honeys ranged respectively from 15.71- 41.58 (mg GAE/100g honey) and 3.80-13.20 (mg QE/100g honey). Antioxidant activity was between 23.19%-94.25%, β -carotene bleaching inhibition 69.54%-85.69%, pH ranged from 3.63-3.83, Acidity 11.99-20.50 mEq/kg, diastase activity of all samples was negative except sample No.1. All samples had positive HMF results. **CONCLUSIONS:** Regarding the above results, it could be concluded that the honey samples have significant antioxidant activity. All parameters of physicochemical test were according to the international specifications except diastase and HMF tests, which may be due to improper processing and storage condition, heating treatment, old honey, etc.

Keyword: honey, DPPH, antioxidant activity, total phenol content

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Amount of total phenolic content of Sabalan honey samples. (mgGAE/100g honey). (Mean \pm SD). Different superscript letters indicate significant differences between the means.

Table 2. Amount of flavonoids content of Sabalan honey samples. (mg QE/100g honey). (Mean \pm SD). Different superscript letters indicate significant differences between the means.

Table 3. pH and acidity (mEq/kg) of Sabalan honey samples.

Graph 1. In vitro antiradical activity of Sabalan honey in DPPH assay.

Graph 2. Antioxidant activity of Sabalan honey defined as inhibition percentage through β -carotene-linoleic acid assay.



*Corresponding author's email: akamkar@ut.ac.ir, Tel: 021-61117042, Fax: 021-66933222

J. Vet. Res. 72, 1, 2017