تعیین خواص فیزیکو شیمیایی و فعالیت آنتی اکسیدانی عسل‌های خارشتر، یونجه و گون در استان خراسان رضوی

سمیرا بزرگی کاسگری[*۱]، راهله رهباریان[*۲]، ناصر مرگان ازغدی[۳]، محمد رضا شریعتی[٤]

۱- کارشناسی ارشد بیوشیمی، دانشگاه پیام نور تهران، ایران، E-mail: Samirabozorgi10@yahoo.com
۲- استادیار گروه زیست شناسی دانشگاه پیام نور تهران، ایران، E-mail: r_rahbarian@pnu.ac.ir
۳- معاون توسعه مدیریت و منابع، اداره کل دامپزشکی استان خراسان رضوی، ایران
۴- مسئول مبارزه با بیماری های زنبور عسل، اداره کل دامپزشکی استان خراسان رضوی، ایران

چکیده

در این تحقیق خواص فیزیکوشیمیایی و آنتی اکسیدانی ۸۴ نمونه عسل طبیعی (خارشتر، گون و یونجه) در استان خراسان رضوی، در قالب ۴ منطقه جغرافیایی مورد بررسی قرار گرفت. در هر منطقه، ۷ نمونه از هر نوع عسل جمع آوری شد و سپس شاخص‌های فیزیکوشیمیایی شامل رطوبت، ضریب بریکس، نسبت فروکتوز به گلوکز، ساکارز، دیاستاز (کیفی) و HMF، در نمونه‌های عسل اندازه‌گیری شد. همچنین محتوای فنلی کل، فلاونوئیدی کل و فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH ارزیابی گردید و میانگین نتایج برای هر نوع عسل در هر منطقه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. عسل‌های خارشتر منطقه ۳ در مقایسه با سایر نمونه‌های مورد بررسی، دارای کمترین میانگین رطوبت (۱۳/۵۷٪) و عسل‌های خارشتر منطقه ۴ دارای کمترین میانگین درصد بریکس (۸۲/۶۰٪) و بالاترین میانگین اسیدهای فنولیک (۰/۰۱۷mg/GAE) و فعالیت آنتی اکسیدانی (۴۴/۳۱٪) بودند. عسل‌های یونجه منطقه ۲ دارای بیشترین میانگین نسبت فروکتوز به گلوکز (۱/۲۴٪) و کمترین میانگین ساکارز (۲/۳٪) و عسل‌های خارشتر این منطقه دارای کمترین میانگین هیدروکسی متیل فورفورال (۲/۱۵mg/kg) بود و همچنین تمامی نمونه‌ها دارای فعالیت آنزیم دیاستازی بودند. بنابر نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان گفت که عسل‌های خارشتر در مقایسه با دو نوع گیاه دیگر بالاترین شاخص‌های کیفیت را دارا می‌باشند. ضریب همبستگی بالا بین ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی نشان می‌دهد که ترکیبات فنلی یکی از مهمترین شاخص‌های موثر بر میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عسل می‌باشد، بنابراین می‌توان شاخص‌های فنلی را معیار مناسبی برای تعیین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی جهت ارزیابی کیفیت عسل معرفی نمود.

کلید واژگان: عسل، فعالیت آنتی اکسیدانی، خواص فیزیکوشیمیایی، خراسان رضوی

۱-مقدمه

عسل یک محصول طبیعی، شیرین و بی نظیر که از شهد، شکوفه یا ترشحات بخش‌های زنده گیاه بدست می‌آید و دارای ارزش غذایی، پزشکی، آرایشی و صنعتی می‌باشد و یک محصول بسیار پر مصرف است (۲۸). شهد پس از جمع‌آوری توسط زنبور به روش‌های آنزیمی و غیرآنزیمی تغییر یافته و به عسل مبدل می‌شود. خواص ظاهری عسل مانند رنگ، عطر، بو و غلظت به منطقه پرورش زنبور، آب و هوا و فصل برداشت بستگی دارد (۳). عسل یک ترکیب پیچیده با بیش از ۲۰۰ نوع ترکیب مختلف است که ۸۰ تا ۸۵ ٪ وزن خشک عسل را کربوهیدرات‌ها (۳۸٪ فروکتوز، ۳۰٪ گلوکز، ۱۰٪ ساکارز و دیگر قندها) تشکیل می‌دهند. علاوه بر کربوهیدرات‌ها، عسل طبیعی حاوی اسیدهای آلی (گلوکونیک، فرمیک، سیتریک، لاکتیک)، پروتئین و اسیدهای امینه ۰/۴٪ (پرولین، لیزین، آسپارتات، گلوتامات)، مواد معدنی (کلسیم، فسفر، پتاسیم، گوگرد)، ویتامین‌ها (الکالوئیدها، گلیکوزیدهای آنتراکینون، ویتامین C)، ۱۳ تا ۲۰٪ آب، خاکستر ۰/۲٪ و آنتی اکسیدان‌ها تشکیل شده است. عسل دارای انواع آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی شامل گلوکز اکسیداز، کاتالاز، ال- آسکوربیک اسید، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، کاروتنوئیدها و اسیدهای آلی، آمینواسیدها و پروتئین‌ها می‌باشد. مقدار اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها به شدت تحت تأثیر عواملی نظیر منابع گل، فصل و عوامل محیطی می‌باشند که در این میان منشأ گیاهی عسل، بیشترین تأثیر را بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی آن دارد (۲۶). آنتی اکسیدان‌ها از فعال‌ترین ترکیبات فیزیولوژیکی در عسل می‌باشند که در حفاظت از موجودات زنده در برابر آسیب اکسیداتیو نقش مهمی دارند، با توجه به این ویژگی، عسل در پیشگیری از بیماری‌های مزمن مانند سرطان، برخی تخریب‌های عصبی، بیماری‌های عروق کرونر، آلزایمر و پارکینسون استفاده می‌شود زیرا این بیماری‌ها در نتیجه آسیب اکسیداتیو ایجاد می‌شوند (۲۷، ۱۵). در واقع این آسیب‌ها منجر به پیشرفت بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان، اختلالات متابولیکی و اختلالات عملکرد قلبی عروقی می‌شوند (۲۱). در یک مطالعه که توسط مالگورزاتا و همکاران در سال ۲۰۱۸ بر روی ۹۰ نمونه عسل لهستانی با منشا گیاهی مختلف انجام گرفت، آنها اظهار داشتند که عسل‌های تیره تر در مقایسه با عسل‌های روشن، فعالیت آنتی اکسیدانی بهتر و بیشتری را نشان می دهند و نیز اظهار داشتند که همبستگی مثبت و بالایی بین ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی و شدت رنگ بین نمونه های عسل‌های مورد مطالعه وجود دارد (۲۵). در مطالعه دیگری که توسط مکوانینت و میرج در سال ۲۰۱۹ انجام گرفت ، این محققین گزارش کردند که بین محتوای فنلی کل و فعالیت مهار رادیکال آزاد نمونه‌های عسل مناطق آمهارا، تیگرای و اتیوپی ارتباط زیادی وجود دارد. ضریب همبستگی مشاهده شده حاکی از آن بود که عسل‌هایی که محتوای فنلی بالاتری دارند، فعالیت مهار رادیکال آزاد بیشتری نشان می‌دهند(۲۵). بسیاری از پژوهشگران مطالعات زیادی بر خواص

فیزیکوشیمیایی انواع مختلف عسل داشته‌اند (۲، ۹، ۲۰). ترکیب شیمیایی و کیفیت عسل بستگی به عوامل مختلف نظیر منطقه جغرافیایی و پوشش گل‌های آن، شرایط آب و هوایی در طی تولید عسل و نحوه حمل و نقل آن دارد. خواص فیزیکی عسل‌ها بستگی به مقدار آب و نوع فلور گلی مرتع، درجه حرارت و نسبت بین قندهای موجود در عسل دارد (۱). بلوچ و همکاران در سال ۲۰۱۶ خواص فیزیکوشیمیایی عسل با نام‌های مختلف تجاری را در پاکستان بررسی و با استانداردهای کدکس اروپا مقایسه کرد (۱۲). در مطالعه دیگر که توسط بوسعید و همکاران در سال ۲۰۱۴ روی ۶ نمونه از عسل‌های مختلف تونس انجام گرفت، میزان HMF[1] در نمونه‌های عسل مورد مطالعه کمتر از حد استاندارد کدکس گزارش شد(۱۳). قابل ذکر است که استان خراسان رضوی به دلیل پوشش گیاهی متنوع، آب و هوای متغیر، قرار گرفتن در جمع ۱۰ منطقه برتر تولید عسل کشور و دسترسی آسان مورد پژوهش قرار گرفت. هدف از این تحقیق، بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و آنتی اکسیدانی عسل گیاهان خارشتر، یونجه و گون در مناطق مذکور جهت ارزیابی میزان کیفیت غذایی و درمانی عسل های مورد بررسی وهمچنین معرفی معیارها و شاخص های مناسب جهت ارزیابی نمونه های عسل می‌باشد. انتخاب گیاهان در این پژوهش بر اساس پوشش غالب گیاهی منطقه و همچنین بالا بودن میزان عسل تولیدی از این گیاهان در مناطق مورد بررسی بوده است.

۲-مواد و روش‌ها

۲-۱-آماده‌سازی نمونه‌های عسل

در این پروژه، استان خراسان رضوی بر اساس پوشش گیاهی و منطقه آب وهوایی به چهار منطقه تقسیم گردید (جدول ۱). از هریک از این مناطق از هر گیاه گون، یونجه و خارشتر ۷ نمونه که جمعا ۸۴ نمونه عسل به طور تصادفی از تولید کنندگان عمده عسل تهیه و سپس در شرایط استاندارد به آزمایشگاه اداره کل دامپزشکی استان خراسان رضوی منتقل شده و پس از آماده سازی‌های اولیه (نمونه‌ها تا زمان آزمایش در محیط خشک و تاریک نگهداری شدند. هر ماده خارجی درشت از عسل خارج گردید. در صورت متبلور شدن عسل از بن ماری با دمای ۶۰ درجه سانتی گراد استفاده شد) و مطابق روش‌های استاندارد ملی ایران شماره ۹۲ عسل، فاکتورهای مورد نظر آنالیز و ارزیابی شدند.

[1] - Hydroxymethylfurfural

جدول ۱- تقسیم بندی مناطق

منطقه	شهرستان
۱	مشهد، چناران، کلات، درگز و قوچان
۲	فریمان، سرخس، تربت حیدریه، تایباد و تربت جام
۳	بردسکن، گناباد، کاشمر، خلیل آباد و مه ولات
٤	سبزوار، جوین، جغتای، فیروزه و نیشابور

۲-۲-مواد شیمیایی: کلیه مواد و محلول‌های مورد استفاده در این مطالعه توسط شرکت مرک آلمان و سیگما آمریکا تولید شده بودندکه شامل: (فهلینگ A و فهلینگ B، ساکارز خالص ازمایشگاهی، اسیدکلریدریک غلیظ، فنل فتالئین، معرف آبی متیلن، هیدروکسید سدیم ، اسیدسولفوریک، تیوسولفات سدیم، ید، فروسیانور پتاسیم، استات روی، محلول بی‌سولفیت سدیم، کربنات سدیم ۱۵، کلرید آلومینیوم (Merck, Darmstadt, Germany)، (اسید گالیک، معرف فولین سیوکالتیو،کوئرستین، DPPH (sigma Chmicals company, st.Louis USA)

۲-۳-آنالیز روش‌ها

۲-۳-۱-اندازه‌گیری میزان درصد رطوبت: بررسی رطوبت و مواد جامد محلول در آب با استفاده از دستگاه رفراکتومتر(KRUSS.HRH30, Hamburg, Germany) انجام شد. برای بررسی رطوبت بر روی سطح تمیز و خشک منشور دستگاه رفراکتومتر مقدار مناسبی از نمونه آماده سازی شده قرار داده شد، سپس اندیس رفراکسیون در ۲۰ درجه سلسیوس قرائت شد و مقدار درصد رطوبت مربوطه از جدول رطوبت در استاندارد ملی تعیین گردید (۱).

۲-۳-۲-اندازه‌گیری میزان مواد جامد محلول در آب: درجه بریکس نمونه‌های عسل به وسیله دستگاه رفرکتومتر (KRUSS.HRH30, Hamburg, Germany) در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرائت گردید (۱).

۲-۳-۳-اندازه‌گیری میزان قندهای احیاکننده: محتوای قند کل و قندهای احیاکننده به روش Lyne – Eynon طبق فرمول زیر محاسبه شد (۱).

$$S=F*250*100/V*W*1000$$

S = قندهای احیاکننده در ۱۰۰ گرم نمونه عسل F= عیارفهلینگ V = میلی لیتر مصرفی بورت W = وزن نمونه عسل (۱ گرم) ۱۰۰۰ = تبدیل میلی گرم به گرم

۲-۳-۳-۱-تعیین مقدار گلوکز: با استفاده از روش یدومتری و تیتراسیون محلول نمونه عسل آزمون قندهای احیاکننده، درصد گلوکز موجود در نمونه طبق فرمول زیر محاسبه شد (۱).

$$G=250*9.01*D*100/25*W*1000$$

W = وزن ۱ گرم نمونه عسل D = تفاوت تیوسولفات سدیم مصرفی و شاهد

۲-۳-۳-۲-تعیین مقدار فروکتوز: از تفاوت مقدار قندهای احیاکننده قبل از هیدرولیز با مقدار گلوکز، مقدار فروکتوز بدست آمد. نسبت فروکتوز به گلوکز از تقسیم درصد فروکتوز برگلوکز محاسبه گردید (۱).

۲-۳-٤-تعیین فعالیت دیاستازی (روش کیفی): ۱۰ gr نمونه عسل را با ۲۰ ml آب مقطر حل نموده و سپس در دو لوله آزمایش یکی نمونه و دیگری شاهد ۱۰ ml از این محلول را ریخته و به یکی از لوله‌ها که لوله نمونه است ۱ ml محلول نشاسته ۱ ٪ اضافه کرده و آن را در بن ماری با دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ ساعت قرار داده، سپس به آن ۱ ml محلول ید اضافه کرده و رنگ حاصل را مشاهده نموده و بلافاصله به لوله دوم که لوله شاهد می‌باشد، ۱ ml محلول نشاسته و ۱ ml محلول ید افزوده و رنگ حاصل با رنگ لوله نمونه مقایسه شد. اگر عسل دارای فعالیت دیاستازی باشد رنگ سبز زیتونی یا قهوه ای در مخلوط ظاهر می‌شود اگر عسل را زیاد حرارت داده باشند و یا طبیعی نباشد رنگ آبی حاصل می‌شود(۳).

۲-۳-۵-اندازه‌گیری هیدروکسی متیل فورفورال(HMF)[1]: سنجش میزان هیدروکسی متیل فورفورال به روش اسپکتروفتومتری White تعیین گردید (۳۲). پس از شفاف کردن نمونه‌ها توسط معرف‌های کاریز یک و کاریز دو و افزودن بی‌سولفیت سدیم ۰/۲ ٪ و آب مقطر به ترتیب به محلول شاهد و نمونه، جذب نوری آنها در مقابل محلول شاهد در طول موج‌های ۲۸۴ و ۳۳۶ nm توسط اسپکتروفتومتر UV-VIS (Hitachi,u- 2000 Japan) خوانده شد. میزان اچ ام اف با کم کردن میزان جذب امواج پس زمینه در طول موج ۳۳۶ nm از میزان جذب در طول موج ۲۸۴ nm به دست آمد (۹).

[1] - Hydroxymethylfurfural

۲-۳-٦-اندازه‌گیری فنول کل (TPC)[1]: ۱ gr عسل را در ۱۰ ml آب مقطر حل کرده و محلول حاصل را از کاغذ صافی واتمن عبور داده، سپس ۰/۵ ml از محلول حاصل را با ۰/۳ ml معرف سیوکالتیو مخلوط کرده و ۵ دقیقه بعد، ۲ ml کربنات سدیم ۱۵٪ به محلول اضافه کرده و سپس با آب مقطر به حجم ۵ ml رسانده شد. ۲ ساعت در دمای اتاق در تاریکی قرار داده شد و میزان جذب را در طول موج ۷۹۸ نانومتر قرائت گردید. از آب مقطر به عنوان شاهد استفاده شد (۱۹). برای رسم منحنی استاندارد، ۲۵ ml (۰/۰۲۵ gr) اسید گالیک را در ۲۵۰ ml آب مقطر حل کرده و سپس طیف وسیعی از استانداردهای اسید گالیک (استوک) ۰/۱-۰ mg/ml تهیه شد، ۰/۳ ml معرف سیوکالتیو، ۲ ml محلول کربنات سدیم ۱۵٪ اضافه گردید و جذب محلول‌ها در طول موج ۷۹۸ نانومتر قرائت شد و منحنی رسم گردید (۵).

۲-۳-۷-اندازه‌گیری فلاونوئیدکل (TFC)[2]: ۵ میلی‌لیتر محلول کلرید آلومینیوم ۲٪ (۲ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول) با ۵ میلی‌لیتر محلول عسل ۰/۱ gr/ml مخلوط شد. جذب نوری پس از ۱۰ دقیقه نگهداری در دمای اتاق در طول موج ۴۱۵ نانومتر در مقابل بلانک (۵ میلی‌لیترکلرید آلومینیوم و ۵ میلی‌لیتر آب مقطر) قرائت شد(۱۹). برای رسم منحنی استاندارد، ۰/۰۵۰ گرم کوئرستین در ۱۰ میلی‌لیتر متانول (۹۵٪) حل کرده و در یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری به حجم رسانده شد. طیف وسیعی از استانداردهای کوئرستین ۰/۰۰۰۵، ۰/۰۰۵، ۰/۰۱، ۰/۰۲، ۰/۰۲۵، ۰/۰۳۵ و ۰/۰۵ تهیه شد و به همان روش نمونه‌های عسل، بقیه ترکیبات اضافه شد. در این معادله x مقدار جذب و y مقدار کل ترکیبات فلاونوئید می‌باشد(۱۹). $y= (0/029x - 0/002)$

۲-۳-۸-ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد (DPPH)[3]: جذب نمونه‌ها در طول موج نانومتر ۵۱۷ بیانگر مقدار DPPH باقی مانده است. عسل در آب گرم یونیزه (۰/۱ gr/ml) حل شد و سپس ۲ میلی‌لیتر از این محلول را با ۴ میلی‌لیتر محلول DPPH (۰/۰۹ میلی‌گرم در میلی‌لیتر متانول) مخلوط کرده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس جذب در ۵۱۷ نانومتر در مقابل بلانک (۲ میلی‌لیتر آب مقطر و ۴ میلی‌لیتر DPPH) قرائت شد. فعالیت مهار رادیکال آزاد[4] (RSA) به عنوان درصدی از DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۲۸ کمی تغییر یافته). AB: جذب استاندارد، AS: جذب بلانک

$$\%RSA= (Abs.DPPH- Abs.\ sample/Abs.DPPH) \times 100 \qquad [AB-AS / AB] \times 100$$

[1] - Total phenol compounds
[2] - Total flavonoid compounds
[3] - 2,2 diphenyl-1 picrylhydrazyl
[4]- radical scavenging activity

۲-۳-۹-اندازه‌گیری شدت رنگ عسل (ABS450)[1]: ۲۵ گرم از نمونه‌های عسل آماده شده را با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر رقیق کرده و محلول را با کمک کاغذ صافی صاف کرده و سپس جذب نوری با دستگاه اسپکتروفتومتری در دو طول موج ۴۵۰ و ۷۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد و اختلاف جذب به عنوان واحد جذب (MAU)[2] بیان شد (۱۸).

۲-٤-تجزیه و تحلیل آماری: کلیه آزمون‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های عسل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار مورد سنجش قرار گرفت. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین نمونه‌ها (آزمون دانکن و LSD) با استفاده از نرم افزار SPSS ورژن ۱۸ انجام شد و سطح معناداری در این پژوهش برابر با ۰/۰۵ و ۰/۰۱ در نظر گرفته شده است. اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ±SD) بیان شد.

۳-نتایج و بحث:

۳-۱-رطوبت: میانگین رطوبت نمونه‌های عسل در محدوده (۱/۷۸ ± ۱۵/۸۷٪) – (۱/۰۱ ± ۱۳/۵۷٪) تعیین شد. میانگین این پارامتر درجدول شماره ۲ نشان داده شده است. میانگین رطوبت همه نمونه عسل‌های مورد بررسی کمتر از حداکثر میزان تعیین شده استاندارد کدکس (۲۰٪) بود. میانگین رطوبت (۱۳/۵۷٪) در عسل‌های خارشتر منطقه ۳ به طور معنی داری کمتر از سایر نمونه‌های عسل مورد بررسی بود (جدول ۲). مابقی نمونه‌های عسل مورد بررسی از نظر میزان رطوبت تفاوت معنی داری با یکدیگر نشان ندادند (جدول ۲). میزان رطوبت عسل به شرایط مختلف محیطی از جمله عوامل آب و هوایی، فصل برداشت، و درجه بلوغ در کندو بستگی دارد. سطح پایین آب به دست آمده بیانگر برداشت به موقع نمونه‌های مختلف عسل می‌باشد. رطوبت بالا می‌تواند باعث تخمیر نامطلوب عسل در طول انبارداری به علت تاثیر مخمرهای اسموفیلیک[3]، کپک[4]و تشکیل اتیل الکل و دی اکسید کربن شود. الکل نیز می‌تواند به اسید استیک و آب اکسید شده و باعث طعم ترش در عسل گردد (۲۸). نمونه‌های عسل خارشتر منطقه ۳ دارای پایین‌ترین میانگین رطوبت بودند، بنابراین مدت ماندگاری بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند. نتایج حاصل از بررسی میزان رطوبت در تحقیق حاضر با نتایج پری چهره و همکاران (۱۴۰۰) که میانگین رطوبت تعدادی از نمونه‌های عسل تولید شده در نواحی مختلف کشور شامل بوشهر، چابهار، دزفول، ایرانشهر، جهرم، جیرفت و رودان را ۱۳/۶۷٪ گزارش کردند، همخوانی داشت

[1] - Color intensity
[2] - Mili absorbance units
[3] - saccharomyces rouxii
[4] - Aspergillus echinulatus

(۲). همچنین میانگین رطوبت نمونه عسل‌های مورد بررسی با نتایج پژوهش باکور و همکاران (۲۰۲۰) و القمدی و همکاران (۲۰۱۷) نیز همخوانی داشت(۱۰، ۱۱).

۳-۲-درصد بریکس: میانگین مواد جامد محلول یا درجه بریکس نمونه‌های عسل در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین درصد بریکس در بین نمونه‌های عسل در محدوده (۰/۵۹ ± ۸۲/۶ ٪) – (۰/۵ ± ۸۵/۳۳ ٪) قرار گرفت. عسل‌های گون منطقه ۴ بیشترین میانگین بریکس (۸۵/۳۳ ٪) و عسل‌های خارشتر منطقه ۴ کمترین میانگین بریکس (۸۲/۶۰ ٪) را نشان دادند ($p < ۰/۰۵$). بین نمونه‌های عسل خارشتر منطقه ۳ و عسل‌های گون منطقه ۴ با نمونه عسل‌های خارشتر منطقه ۴ و عسل‌های گون منطقه ۱ و ۳ اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p <۰/۰۵$). مواد جامد محلول تحت تاثیر عوامل مختلف از جمله نوع گل و موقعیت جغرافیایی است. مقادیر غیر طبیعی (بیشینه ۸۵ ٪) درجه بریکس می‌تواند شاخص قابل اطمینانی برای تشخیص تقلب در عسل باشد. میانگین درصد بریکس نمونه عسل‌های مورد بررسی در تحقیق حال حاضر با نتایج گزارش شده توسط ساکسنا و همکاران (۲۰۱۰) که میانگین بریکس ۷ نمونه عسل هندی را در محدوده ۸۸-۷۶ ٪ گزارش کردند، همخوانی داشت (۲۹). همچنین میانگین درصد بریکس نمونه عسل‌های مورد مطالعه با نتایج پژوهش جلیلیان و همکاران (۱۳۹۲) و براگا و همکاران (۲۰۲۰) نیز همخوانی داشت (۳، ۱۴).

۳-۳-نسبت فروکتوز به گلوکز: طبق استاندارد کدکس حداقل میزان نسبت فروکتوز به گلوکز ۰/۹ درصد می‌باشد. میانگین این پارامتر در نمونه‌های عسل گیاهان ۴ منطقه در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین این پارامتر در نمونه‌های عسل در محدوده (۰/۲۰ ± ۰/۸۲ ٪) – (۰/۰۸ ± ۱/۲۴٪) قرار گرفت. عسل‌های گون منطقه ۱ کمترین میانگین نسبت فروکتوز به گلوکز (۰/۸۲٪) را در بین ۸۴ نمونه نشان دادند ($p <۰/۰۵$). بین نمونه عسل‌های گون منطقه ۱ با عسل‌های گون منطقه ۲، ۳ و ۴ و عسل‌های خارشتر منطقه ۱،۲ و۴ و عسل‌های یونجه منطقه ۱، ۲، ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p <۰/۰۵$). محتوای گلوکز و فروکتوز در عسل تحت تاثیر منشا گیاهان (انواع گل‌ها به عنوان منبع شهد ماده اولیه تولید عسل)، منشا جغرافیایی، آب و هوا، فراوری و ذخیره سازی می‌باشد (۱۶). تمام نمونه عسل‌های موجود در این مطالعه عسل تازه و طبیعی بودند. گل‌های مختلف بر ترکیب شیمیایی شهد تاثیر دارند، بنابراین ترکیب شیمیایی عسل بر روی مقدار گلوکز و فروکتوز تاثیر می‌گذارد. در انواع عسل میزان فروکتوز بالاتر از گلوکز است و این سبب سیالیت نمونه‌های عسل می‌شود. گلوکز نسبت به فروکتوز کمتر محلول در آب است و نسبت فروکتوز به گلوکز به شدت وابسته به منبع نکتار می‌باشد. میانگین درصد نسبت فروکتوز به گلوکز در نمونه عسل‌های مورد بررسی در تحقیق

حال حاضر به جز یک مورد (نمونه عسل‌های گون منطقه ۱)، سایر نمونه‌های عسل با حداقل میزان تعیین شده استاندارد کدکس(۰/۹٪) همخوانی داشتند. در این پارامترعسل‌های یونجه منطقه ۲ نسبت به سایر نمونه‌های مورد بررسی، از ارزش تغذیه‌ای بیشتری برخوردار بودند. جلیلیان و همکاران (۱۳۹۲) میانگین درصد نسبت فروکتوز به گلوکز در نمونه‌های عسل جمع‌آوری شده از استان گلستان را ۱/۳۲ ٪ گزارش کردند که نتایج ایشان با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت (۳). همچنین میانگین درصد نسبت فروکتوز به گلوکز نمونه عسل‌های مورد تحقیق با نتایج پری چهره و همکاران (۱۴۰۰) و کامکار و خدابخشیان (۱۳۹۵) همخوانی داشت (۲، ۶).

۳-٤-ساکارز قند غیراحیاکننده: میانگین ساکارز نمونه‌های عسل ۴ منطقه در جدول ۲ نشان داده شده است. میانگین این پارامتر در محدوده (۱/۶۳ ± ۲/۳٪)– (۱/۱۳ ± ۶/۶۱٪) می‌باشد. عسل‌های یونجه منطقه ۳ بیشترین میانگین درصد ساکارز (۶/۶۱٪) و عسل‌های یونجه منطقه ۲ کمترین میانگین درصد ساکارز(۱/۲۴ ٪) را نشان دادند ($p <$ ۰/۰۵). بین نمونه عسل‌های یونجه منطقه ۲ با نمونه عسل‌های یونجه منطقه ۳ و ۴ تفاوت معنی داری وجود داشت ($p <$ ۰/۰۵). و نیز همچنین بین عسل‌های گون منطقه ۱ و عسل‌های خارشتر منطقه ۳ تفاوت معنی داری مشاهده شد ($p <$ ۰/۰۵). عسل‌های یونجه منطقه ۱ با یونجه منطقه ۳ و۴ و گون منطقه ۱ نیز اختلاف معنی‌داری را از نظر میزان ساکارز نشان دادند ($p <$ ۰/۰۵). محتوای قند عسل عمدتا فروکتوز (۳۸٪)، گلوکز (۳۱٪) و به مقدار کمتر ساکارز (۱٪) وزنی / حجمی می‌باشد. محتوای ساکارز در نمونه عسل پارامتر قابل توجهی برای ارزیابی کیفیت عسل می‌باشد. میانگین درصد ساکارز در اکثر نمونه عسل‌های مورد بررسی از حداکثر میزان تعیین شده توسط استاندارد کدکس کمتر بودند به جز در نمونه عسل‌های گون منطقه ۱ و نمونه عسل‌های یونجه منطقه ۳ و ۴ که بالاتر از حداکثر میزان استاندارد کدکس (۵٪) بودند. مقدار زیاد ساکارز معمولا از برداشت زود هنگام عسل ناشی می‌شود، چون ساکارز نمی‌تواند طی فعالیت‌های آنزیم اینورتاز به طور کامل به فروکتوز و گلوکز تبدیل شود. بالا بودن مقدار ساکارز در عسل می‌تواند نشان‌دهنده تغذیه زنبورها با محلول آب و شکر هم باشد که یکی از دلایل مهم کاهش علاقه مندی مصرف کنندگان به حساب می‌آید (۱، ۱۹). به طور کلی حد مجاز ساکارز عسل بر اساس استاندارد کدکس حداکثر ۵٪ می‌باشد که البته این میزان برای زنبورهای عسل تغذیه کرده از گیاهان مختلف متفاوت است، به طوری‌که حد مجاز ساکارز در عسل‌های تک گل نظیر مرکبات، یونجه، شبدر، ماش معطر (اسپرس) و اقاقیا ۱۰٪ و برای اسطوخودوس ۱۵٪ تعیین شده است. این موضوع نشان‌دهنده تاثیر گونه گیاهی مورد استفاده زنبورهای عسل بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی عسل است (۲۹)، که نمونه عسل‌های یونجه با توجه به موارد فوق الذکر از حداکثر میزان استاندارد کدکس که برای برخی از عسل‌های تک گل تعیین شده است (۱۰٪)، کمتر بود. نمونه عسل‌های یونجه منطقه ۲ کمترین

میانگین ساکارز (۲/۳ ٪) را نشان دادند، بنابراین، در این پارامتر نمونه عسل‌های یونجه منطقه ۲، از ارزش غذایی بالاتری نسبت به سایر نمونه‌های عسل مورد بررسی برخوردار بودند. طارق و همکاران (۲۰۲۲) میانگین درصد ساکارز در ۱۲ نمونه عسل پاکستان را در محدوده ۲/۳۵-۰/۰۹۲ ٪ گزارش کردند که نتایج ایشان با نتایج پژوهش حاضر مطابقت داشت (۳۱). همچنین میانگین درصد ساکارز نمونه عسل‌های مورد تحقیق با نتایج مطالعه جلیلیان و همکاران (۱۳۹۲) و آدگابا و همکاران (۲۰۲۰) نیز همخوانی داشت (۳، ۷). گولر[1] و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی بعد از مقایسه مقادیر قند ساکارز در عسل طبیعی و تقلبی بیان کردند که اندازه‌گیری این فاکتور در عسل معیار دقیقی برای جداسازی عسل تقلبی نمی‌باشد. چون به علت تولید آنزیم اینورتاز توسط زنبوران کارگر مقداری از ساکارز می‌تواند به گلوکز و فروکتوز تبدیل شود و عسلی که با تغذیهٔ بیش از حد زنبور با شیره شکر تولید شده بود حاوی مقادیر ساکارز کمتر از حداکثر مجاز استاندارد بود (۲۲).

۳-۵-هیدروکسی متیل فورفورال: میانگین هیدروکسی متیل فورفورال نمونه‌های عسل در جدول ۲ نشان داده است. محدوده این پارامتر در نمونه عسل‌های بررسی شده بین (۲/۳۹ ± ۲/۱۵) -(۵/۷۴ ± ۲۷/۵۶) mg/kg قرار گرفت. عسل‌های خارشتر منطقه ۲ کمترین میانگین HMF (۲/۱۵ mg/kg)را در بین نمونه های دیگر داشت (p <۰/۰۵). بین نمونه عسل‌های یونجه منطقه ۲ با خارشتر منطقه ۲ و گون منطقه ۲ اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p <۰/۰۵). کدکس و اتحادیه اروپا نیز اگرچه حداکثر حد مجاز HMF را در عسل ۴۰mg/kg عنوان کرده‌اند، اما مواردی شامل ۸۰mg/kg برای عسل‌های کشورهایی با آب و هوای گرمسیری و ۱۵ mg/kg برای عسل‌های با یک سطح فعالیت آنزیمی پایین را استناد دانستند (۲۱). میزان HMF شاخصی برای تازگی عسل می‌باشد. مقادیر بالای HMF نشانگر یک مشکل بهداشتی نیست (۳۲) و بعضی از محققین (۲، ۳۲) پیشنهاد نمودند که این میزان می‌تواند تا ۸۰ mg/kg افزایش یابد (۳۲). میانگین میزان HMF در نمونه عسل‌های مورد مطالعه کمتر از حداکثر میزان تعیین شده استاندارد کدکس بود. کمترین میزان HMF مربوط به عسل‌های خارشتر منطقه ۲ بود، بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که عسل‌های خارشتر منطقه ۲ نسبت به سایر نمونه‌های مورد بررسی در این پارامتر دارای کیفیت بالاتری بودند. میانگین HMF در نمونه عسل‌های مورد بررسی در تحقیق حال حاضر با نتایج گزارش شده توسط القمدی و همکاران (۲۰۱۷) که میانگین HMF در نمونه عسل‌های عربستان را ۳/۱۷ mg/gr گزارش کردند، همخوانی داشت (۹). همچنین میانگین HMF نمونه عسل‌های مورد مطالعه با نتایج پژوهش پری چهره و همکاران (۱۴۰۰) و صالح‌نژاد و حسینی‌پور (۲۰۱۹) مطابقت داشت (۲، ۲۸).

[1] -Guler

۳-٦-دیاستاز: دیاستاز به نام آنزیم آلفا آمیلاز نیز شناخته می‌شود. این آنزیم درون شهد گل وجود دارد، اما در حین جمع‌آوری و تکامل شهد، توسط زنبور عسل نیز به آن اضافه می‌شود. مقدار این آنزیم در عسل‌های حرارت دیده و عسل‌هایی با ماندگاری طولانی کاهش می‌یابد. وجود این آنزیم نشان‌دهنده تازگی عسل می‌باشد (۱۰). مقدار دیاستاز می‌تواند در حین نگهداری در دمای معمولی کاهش پیدا کند (۲۰). این پارامتر به صورت کیفی اندازه‌گیری شد، تمامی نمونه عسل‌های مورد بررسی دارای فعالیت آنزیم دیاستاز بودند که این نتایج نشان‌دهنده این است که نمونه‌های عسل تازه بوده و دارای روش‌های فراوری و نگهداری مناسب بعد از تولید می‌باشند. نتایج حاصل در این تحقیق با نتایج گزارش شده توسط خان‌بابائی و همکاران (۲۰۱۸) که دیاستاز **۹۶** نمونه عسل در استان کردستان را به صورت کیفی ارزیابی کردند همخوانی داشت (۴) .

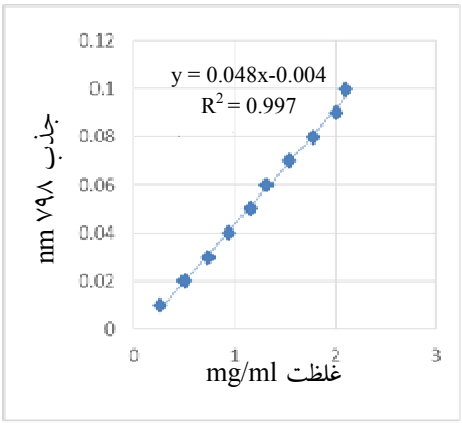
جدول ۲- ارزیابی شاخص های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های عسل گیاهان خارشتر، گون و یونجه در ٤ منطقه مورد بررسی

نوع گیاه	منطقه	درصدرطوبت	درصد بریکس	درصد نسبت فروکتوز به گلوکز	درصد ساکارز	اچ ام اف (mg/kg)
خارشتر	۱	۱٤/۳۰±۰/۹٦ ^{ab}	۸٤/۱۱± ۰/۷٦^{bc}	۱/۰۷± ۰/۱۱^{bc}	۳/٥٦ ±۱/٥۸^{abc}	۱۸/۸۲ ±۱۹/۱٤^{cd}
خارشتر	۲	۱٤/۸٤±۰/۸٦ ^{abc}	۸۳/۱٤± ۰/۹۰ ^{ab}	۱/۰٤± ۰/۱۷^{bc}	٤/۲۹ ±۰/۷۷^{abcd}	۲/۱٥ ± ۲/۳۹^{a}
خارشتر	۳	۱۳/٥۷ ±۰/۰۱ ^{d}	۸٥/۱۳± ۱/٤٦^{cd}	۰/۹۷ ± ۰/٤۱^{ab}	٤/٦۹ ± ۲/٥۲^{bcdf}	٤/۹٥ ± ۳/۷٦^{ab}
خارشتر	٤	۱٥/٥۰±۰/۷۳ ^{bc}	۸۲/٦۰± ۰/٥۹ ^{a}	۱/۱۱± ۰/۱۹ ^{bc}	۳/٦۷ ± ۱/۸۱ ^{abcd}	۱۱/٤٤± ۸/۰۹^{abc}
گون	۱	۱٥/۲۳±۱/۳۲^{bc}	۸۲/۸۷±۱/۲٥^{ab}	۰/۸۲± ۰/۲۰^{a}	٥/۲۹ ± ۲/٦۳ ^{cdf}	٤/۱۱± ۳/٤۷^{a}
گون	۲	۱٤/٦۰±۰/۳٥ ^{abc}	۸۳/۷٤± ۰/٤٤ ^{ab}	۱/۰٥ ± ۰/۰٥^{bc}	۳/٥۹ ± ۲^{abc}	۲/٤۸±۱/٤۰^{a}
گون	۳	۱٥/۳۳±۰/۸۰^{bc}	۸۲/۷۷± ۱/۱۰^{ab}	۱/۰۲ ± ۰/۰٦^{b}	۳/۸۱ ± ۱/٤۱^{abcd}	٦/۲۳ ± ۱۲/۳٦^{ab}
گون	٤	۱٤/۳۳±۱/۸۰^{ab}	۸٥/۳۳± ۰/٥۰^{d}	۱/۱۲± ۰/۱۱^{bc}	۳/۸۱ ± ۰/٤۷ ^{abcd}	۱۲/۰٥± ٥/۱٤^{abc}
یونجه	۱	۱٤/٥٦±۰/٥٤^{abc}	۸۳/٥۹± ۰/٦٦^{ab}	۱/۱۲± ۰/۷۰^{bc}	۳/۱۳ ± ۱/٥۳^{ab}	٤/۹٦± ۲/۳٤ ^{ab}
یونجه	۲	۱٥/۸۷±۱/۷۸^{c}	۸۳/۳۹± ۰/۸٦^{ab}	۱/۲٤± ۰/۰۸^{c}	۲/۳ ± ۱/٦۳^{a}	۳۲/۱۱± ٤/۲٤^{f}
یونجه	۳	۱٤/٦۷±۰/٦۲^{abc}	۸۳/٤٦± ۰/۷۸^{ab}	۱ ± ۰/۰۸^{ab}	٦/٦۱ ± ۱/۱۳^{f}	۱٤/۷۸ ±۱۱/۱٤^{bc}
یونجه	٤	۱٤/۹۳±۱/٦^{abc}	۸۳/٥٦± ۲/۲٦^{ab}	۱/۰۳± ۰/۱۳^{b}	٥/٦۹± ۱/٤۳^{df}	۲۷/٥٦± ٥/۷٤^{df}

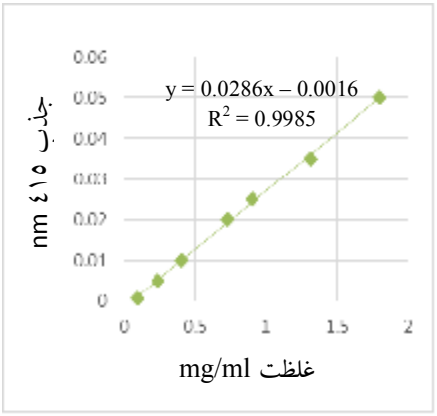
حروف نامشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نمونه‌های عسل در سطح ۰/ ۰۵ می‌باشد.

۳-۷-ترکیبات فنلی کل: میانگین ترکیبات فنلی کل نمونه‌های عسل ۴ منطقه در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین این پارامتر در محدوده (۰/۰۰۲۸ ± ۰/۰۰۸۴) – (۰/۰۰۹۸ ± ۰/۰۱۷) mg گالیک اسید در ۱۰۰ gr عسل قرار گرفت. در نمونه عسل‌های خارشتر و گون منطقه ۴ مقدار ترکیبات فنلی کل (۰/۰۱۷) به طور معنی‌داری بیشتر از سایر نمونه‌های عسل مورد بررسی بود ($p <$ ۰/۰۵). عسل‌های یونجه منطقه ۳ نیز کمترین میانگین فنل کل (۰/۰۰۸۴) نشان دادند ($p <$ ۰/۰۵). بین نمونه عسل‌های یونجه منطقه ۲ و ۳ با عسل‌های گون منطقه ۴ و خارشتر منطقه ۱ و ۴ اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p <$ ۰/۰۵).

۳-۸-فلاونوئید کل: میانگین کل ترکیبات فلاونوئید نمونه‌های عسل در جدول ۳ نشان داده شده است. میانگین این پارامتر در محدوده (۰/۰۰۰۳۸ ± ۰/۰۰۱۳) – (۰/۰۰۳۴ ± ۰/۰۰۴۸) mg اسید کوئرستین در ۱۰۰ gr قرار گرفت. در بین ۸۴ نمونه عسل از ۴ منطقه مورد بررسی عسل‌های گون منطقه ۲ بالاترین میانگین فلاونوئید (۰/۰۰۴۸) را نشان دادند ($p <$ ۰/۰۵). عسل‌های گون منطقه ۲ بیشترین اختلاف معنی‌دار را با سایر نمونه‌های عسل مورد بررسی داشتند ($p <$ ۰/۰۵).



شکل ۱ منحنی استاندارد اسید گالیک



شکل ۲ منحنی استاندارد کوئرستین

۳-۸-فعالیت آنتی اکسیدانی: میانگین درصد فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عسل ۴ منطقه در جدول ۳ نشان داده شده است. فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عسل در محدوده (۴/۷۱ ± ۲۱/۵۵٪)– (۲۰/۸۱ ± ۴۴/۳۱٪) قرارگرفت. نمونه عسل‌های خارشتر منطقه ۴ در مقایسه با مناطق دیگر، بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی (۴۴/۳۱) را دارا بودند ($p <$ ۰/۰۵). بین نمونه عسل‌های خارشتر منطقه ۴ با عسل‌های خارشتر منطقه ۲ و ۳، عسل‌های گون منطقه ۱، ۲ و ۳ و همچنین عسل‌های یونجه منطقه ۲، ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p <$ ۰/۰۵). ترکیبات فنلی گروه مهمی از ترکیبات هستند که بر خصوصیات ظاهری و عملکردی عسل تاثیر می‌گذارند. بنابراین، با توجه به ارزیابی اولیه خواص عسل، شناسایی و کمی سازی محتوای فنلی کل از

اهمیت برخوردار است. همچنین این مواد می‌توانند به عنوان شاخص‌های منشا گیاهی و یا جغرافیایی و منبع گل مورد استفاده قرار گیرند. بسیاری از مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده است که مصرف منظم فلاونوئید با کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی همراه است (۲۲). بیشترین میزان اسیدهای فنولیک در عسل‌های خارشتر و عسل‌های گون منطقه ۴ مشاهده شد و همچنین بیشترین میزان فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به عسل‌های خارشتر منطقه ۴ بود، بنابراین عسل‌های فوق‌الذکر در این پارامتر نسبت به سایر نمونه‌های مورد بررسی دارای ارزش تغذیه‌ای بالاتری بودند. میانگین فنل کل در نمونه عسل‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر با نتایج گزارش شده توسط بصیری و همکاران (۱۳۹۶) که میانگین فنل کل چند نمونه عسل را در سه منطقه استان خراسان رضوی در محدوده (۰/۰۴۷-۰/۰۵۲) mg گالیک اسید در ۱۰۰ gr گزارش کردند، همخوانی داشت (۱). همچنین نتایج حاصله در تحقیق حاضر با نتایج پژوهش کامکار و خدابخشیان (۱۳۹۵)، دانگ و همکاران (۲۰۱۳) و استاگوس و همکاران (۲۰۱۸)، مطابقت داشت (۶، ۱۷، ۳۰).

۳-۱۰-شدت رنگ: میانگین شدت رنگ نمونه‌های عسل چهار منطقه در جدول ۳ نشان داده شده است. شدت رنگ نمونه‌های عسل در محدوده (۰/۱۰۱ ± ۰/۱۹۶) - (۰/۰۵۳ ± ۰/۲۷۵) mAU قرار گرفت. نتایج نشان داد که میانگین شدت رنگ موجود در عسل‌های خارشتر منطقه ۱ بیشترین (۰/۲۷۵) و نمونه عسل‌های خارشتر منطقه ۲ کمترین میزان شدت رنگ (۰/۱۹۶) را دارا بودند ($p > ۰/۰۵$). اختلاف معنی‌داری در شدت رنگ نمونه‌های عسل مورد بررسی وجود نداشت ($p > ۰/۰۵$). رنگ عسل اولین خاصیت فیزیکی عسل است و برحسب اینکه عسل متعلق به کدام منطقه و کدام گل باشد متفاوت است. دامنه رنگ‌های عسل گسترده و متنوع می‌باشد. رنگ عسل را با استفاده از روش‌های طیف سنجی مرئی به طور علمی و دقیق می‌توان اندازه‌گیری کرد (۳۰). میانگین شدت رنگ نمونه عسل‌های مورد مطالعه در تحقیق حال حاضر با نتایج گزارش شده توسط ال.فارسی و همکاران (۲۰۱۸) که شدت رنگ ۲۶ نمونه عسل در عمان را در محدوده (۱۲۹/۸-۳۳۶/۲) mAU گزارش کردند، مطابقت داشت (۱۴). همچنین نتایج حاصله از شدت رنگ در تحقیق حاضر با نتایج پژوهش دوبرو و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت داشت (۱۸).

۳-۱۱-همبستگی میان صفات کیفی عسل‌های مورد بررسی: آزمون تعیین همبستگی بین پارامترهای کیفی عسل در جدول ۴ و شکل ۳ نشان داده شده است. در این آزمون همبستگی مثبت، مستقیم و شدیدی بین ترکیبات فنولی با DPPH (۰/۷۰۸) و شدت رنگ با ترکیبات فنلی (۰/۶۷۸)، همچنین هبستگی مثبت، مستقیم و شدیدی بین ترکیبات رادیکال آزاد با شدت رنگ (۰/۷۰۴) مشاهده شد. همبستگی مثبت، مستقیم و ضعیفی بین پارامترهای نسبت فروکتوز به گلوکز و HMF (۰/۲۵۰) مشاهده شد. همبستگی مثبت، معکوس و شدیدی بین پارامترهای ساکارز و نسبت فروکتوز به گلوکز (۰/۵۴۳ -)، همچنین همبستگی مستقیم،

مثبت و ضعیفی بین شدت رنگ و رطوبت (۰/۲۱۷) مشاهده گردید. نتایج حاصله در این تحقیق با نتایج گزارش شده توسط دانگ و همکاران (۲۰۱۳) که همبستگی بالایی بین فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و ترکیبات فنولیک (۰/۸۹) را نشان می‌دهد همخوانی دارد (۱۷). آن‌ها بیان کردند که تغییر در فعالیت آنتی اکسیدانی عسل‌ها به علت ماهیت کمی و کیفی ترکیبات فنولیکی عسل می‌باشد همچنین در تحقیق دیگری کاماردین محد یوسف و همکاران (۲۰۱۱) همبستگی بالایی بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات فنولیک (۰/۷۳) نمونه‌های عسل مالزی گزارش کردند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۲۳).

جدول ۳- ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عسل گیاهان گون، خارشتر و یونجه در ٤ منطقه مورد بررسی

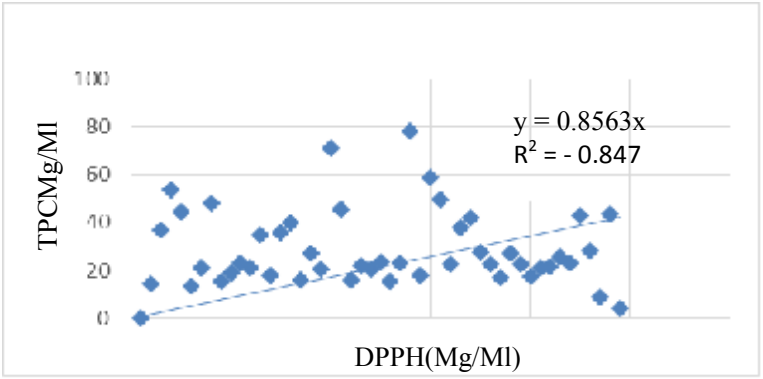
نوع گیاه	منطقه	فنول کل	فلاونوئید کل	درصد رادیکال آزاد	شدت رنگ mAu
		mg/GAE/100 gr	mgQE/100 gr		
خارشتر	۱	۰/۰۱٦ ±۰/۰۰۳٥^{bc}	۰/۰۰۲٥ ±۰/۰۰۱۰^{a}	٤۲/۷۰ ±۱٥/۳٥^{bc}	۰/۲۷٥ ±۰/۰٥۳^{a}
خارشتر	۲	۰/۰۱٤ ± ۰/۰۰۳٤^{abc}	۰/۰۰۳۰ ± ۰/۰۰۱٤^{a}	۲۷/۲۲ ± ۲۲/٦۳^{ab}	۰/۱۹٦ ± ۰/۱۰۱^{a}
خارشتر	۳	۰/۰۱۱ ± ۰/۰۰۱٤^{ab}	۰/۰۰۲٦ ±۰/۰۰۱۰^{a}	۲۲/٥۳ ±۱/۷۱^{a}	۰/۲۱۲ ±۰/۰٤۱^{a}
خارشتر	٤	۰/۰۱۷ ± ۰/۰۰۹۸^{c}	۰/۰۰۲۷ ± ۰/۰۰۱۰^{a}	٤٤/۳۱ ± ۲۰/۸۱ ^{c}	۰/۲٦۳ ± ۰/۱۱۷^{a}
گون	۱	۰/۰۱٤ ± ۰/۰۰٤۹^{abc}	۰/۰۰۲۷ ± ۰/۰۰۱٥^{a}	۲۹/۱۱ ± ۱۱/۱۲^{abc}	۰/۲٦۰ ± ۰/۰۸۷^{a}
گون	۲	۰/۰۱۳ ±۰/۰۰۰٤۹ ^{abc}	۰/۰۰٤۸ ±۰/۰۰۳٤^{b}	۲۳/۱۰ ± ٥/٥۲^{a}	۰/۲۰۲ ±۰/۰٤۰^{a}
گون	۳	۰/۰۱۳ ± ۰/۰۰٤۷ ^{abc}	۰/۰۰۱۳ ±۰/۰۰۰۳۸^{a}	۲٥/٤۸ ±۱٥/۳۳^{a}	۰/۲۰۹ ±۰/۱۱۲^{a}
گون	٤	۰/۰۱۷ ± ۰/۰۰۸٤^{c}	۰/۰۰۲۳ ± ۰/۰۰۰۷^{a}	۳٤/۹٤ ± ۱٥/۰۸^{abc}	۰/۲۳۷ ± ۰/۰۷٥^{a}
یونجه	۱	۰/۰۱۱ ± ۰/ ۰۰۲۱ ^{abc}	۰/۰۰۲۷ ± ۰/۰۰۰٦^{a}	۳۳/۲۷ ± ۱٤/٦۸^{abc}	۰/۲٥٤ ±۰/۰٦۳^{a}
یونجه	۲	۰/۰۰۹٤± ۰/۰۰۱٥ ^{a}	۰/۰۰۲۷ ± ۰/۰۰۰٤^{a}	۲۲/۷۱ ± ۲/۱٦^{a}	۰/۲۱۸ ± ۰/۰۳۲^{a}
یونجه	۳	۰/۰۰۸٤ ±۰/۰۰۲۸^{a}	۰/۰۰۲۳ ±۰/۰۰۲۸ ^{a}	۲۱/٥٥ ±٤/۷۱^{a}	۰/۲۲۳ ±۰/۰٦٥^{a}
یونجه	٤	۰/۰۱۲ ± ۰/۰۰۲۹ ^{abc}	۰/۰۰۲۲ ± ۰/۰۰۰۹^{a}	۲۳/۳۳ ± ۱٦/۹۳^{a}	۰/۲٥۱ ± ۰/۰٥٦^{a}

حروف حروف نامشترک نشان دهنده اختلاف معنی‌دار نمونه‌های عسل در سطح ۰/۰٥ می‌باشد

جدول ٤- ضرایب همبستگی پیرسن میان صفات کیفی نمونه عسل‌های مورد بررسی

	ساکارز	نسبت فروکتوز به گلوکز	اچ ام اف	رطوبت	فنول کل	شدت رنگ	رادیکال آزاد	فلاونوئید کل
ساکارز	۱							
نسبت فروکتوز به گلوکز	-۰/۵۴۳**	۱						
اچ ام اف	۰/۰۴۸	۰/۲۵۰*	۱					
رطوبت	۰/۱۲۵	۰/۰۰۳	۰/۲۰۰	۱				
فنول کل	-۰/۱۶۷	-۰/۰۶۷	-۰/۰۰۵	۰/۱۵۰	۱			
شدت رنگ	-۰/۰۶۵	-۰/۱۱۱	۰/۰۶۵	۰/۶۷۸**	۰/۲۱۷*	۱		
رادیکال آزاد	-۰/۰۳۹	۰/۰۴۴	۰/۰۳۹	۰/۱۹۷	۰/۷۰۸**	۰/۷۰۴**	۱	
فلاونوئید کل	۰/۰۰۶	۰/۰۶۷	-۰/۱۵۸	۰/۰۴۲	۰/۱۴۷	۰/۱۹۰	۰/۱۴۵	۱

علامت ** نشان دهنده همبستگی معنادار در سطح (۰/۰۱) و علامت * نشان دهنده همبستگی معنادار در سطح (۰/۰۵) می باشد



شکل ۳- منحنی همبستگی DPPH و TPC

٤-نتیجه‌گیری نهایی

این اولین مطالعه‌ای است که به بررسی خواص فیزیکوشیمیایی و آنتی اکسیدانی عسل‌های طبیعی خارشتر، گون و یونجه در مناطق مختلف استان خراسان رضوی می‌پردازد.در بررسی انجام شده بر روی عسل‌های گیاهان خارشتر، گون و یونجه در ۴ منطقه استان خراسان رضوی شاخص‌های رطوبت و درجه بریکس، نسبت فروکتوز به گلوکز، ساکارز، هیدروکسی متیل فورفورال، فعالیت دیاستازی و خواص آنتی اکسیدانی عسل مورد ارزیابی قرار گرفتند و نتایج حاصل از نمونه‌های مورد مطالعه مطابق با استاندارد ملی کشور و کدکس بود. کمترین میانگین رطوبت به ترتیب مربوط به نمونه عسل‌های خارشتر منطقه ۳، عسل‌های گون منطقه ۴ و عسل‌های یونجه منطقه ۱ بود، بنابراین این نمونه‌ها نسبت به سایر نمونه‌های مورد بررسی، مدت ماندگاری بیشتری در طول انبارداری دارند. عسل‌های دارای منابع گیاهی متفاوت دارای رنگ و طعم متفاوت بوده و گل‌های بومی منطقه که در هر شهری منحصر به فرد هستند بر خواص عسل تولیدی تاثیر گذاشته که در نهایت با اندازه‌گیری خواص عسل‌ها می‌توان ثابت کرد که تحت تاثیر پوشش گیاهی غالب آن منطقه می‌باشد. همچنین بیشترین میزان ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به عسل‌های خارشتر بود در حالی که نمونه عسل‌های یونجه کمترین میزان ترکیبات فنولیک و آنتی اکسیدانی را در بین نمونه‌های مطالعه شده نشان دادند، بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت نمونه عسل‌های خارشتر به دلیل بالا بودن خواص آنتی اکسیدانی و پایین بودن درصد رطوبت، درجه بریکس، نسبت فروکتوز به گلوکز و هیدروکسی متیل فورفورال دارای ارزش تغذیه ای بالاتری هستند. همچنین در این پژوهش مشخص گردید که همبستگی بالایی بین ترکیبات فنلی کل و میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عسل وجود دارد که این نتیجه نشان‌دهنده این است که ترکیبات فنلی یکی از مهمترین عوامل ایجاد کننده خاصیت آنتی اکسیدانی عسل می‌باشند. بنابراین تعیین میزان ترکیبات کل فنلی در عسل می‌تواند شاخص مناسبی جهت ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عسل و استفاده درمانی از آن باشد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که وجود رنگدانه‌ها (عمدتا فلاونوئیدها و کارتنوئیدها) به میزان افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌های عسل کمک می‌کند (۱۹). در پایان می‌توان چنین نتیجه گرفت که منشا گیاهی، موقعیت جغرافیایی، نوع گل، روش‌های فراوری عسل و عواملی محیطی و فصل تولید عسل می‌تواند تاثیر بسزایی در میزان و نوع ترکیبات عسل و در نتیجه خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تغذیه‌ای آن داشته باشد (۱۹).

۵-تقدیر و تشکر: از جناب اقای دکتر صالح صالح نژاد، جناب اقای مهندس علی عمارلو و شرکت عسل کوهدشت سپاسگزارم.

٦-منابع

۱- بصیری، ش . غیبی، ف و بصیری، ن . ۱۳۹۷. تاثیر فصل برداشت عسل بر ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی، میکروبی و آنتی اکسیدانی آن. *دو فصل نامه علمی ترویجی علوم و فنون زنبور عسل ایران*، دوره ۹، شماره ۱۶، ص ۲۹- ۲۸.

۲- پری چهره، ش. طهماسبی، غ. خاکی، پ و بابایی، م.۱۴۰۰. بررسی خواص فیزیکو شیمیایی عسل زنبور عسل کوچک *(Apis florea)* در مناطق جنوبی کشور. *نشریات علمی کشاورزی*، دوره ۳۴، شماره ۲، تیر ۱۴۰۰، صفحه۱۲۱-۱۳۵.

۳- جلیلیان، ح .ر. بیک نژاد، د و چایچی، م. ج. ۱۳۹۲. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نمونه‌های عسل استان گلستان. *نشریه نوآوری در علوم و فناوری غذایی*، سال ششم، شماره دوم.

۴- خان بابائی، ه. خضری، م. بهمنی، ح. ر. و صالحی، ص. ۱۳۹۶. بررسی تاثیر زمان و ظرف بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی عسل‌های تولیدی استان کردستان. بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کردستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، سنندج، ایران.

۵- سپهری فر، ر. حسنلو، ط. ۱۳۸۸. بررسی ترکیبات پلی فنلی، آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدهای تام و خواص آنتی اکسیدانی گیاه دارویی قره قاط (Vaccinium.arctostaphylos L) جمع آوری شده از چهار منطقه ایران. *فصلنامه گیاهان دارویی*، پیاپی ۳۳.

۶- کامکار، ا. وخدابخشیان، س. ۱۳۹۵. تعیین میزان ترکیبات فنولی، فعالیت‌های آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی عسل سبلان. دوره ۷۲ ، شماره ۱، ص ۶۱-۵۳ .

7- Adgaba, N. Ghamdi, A .Sharma, D and Tadesse, Y . 2020. Physicochemical, antioxidant and anti-microbial properties of some Ethiopian mono-floral. honeys. *Sci. Technol*, vol.40.

8- Al- farsi, M. Al-Amri, A. Al-Hadhrami, A and Al- Belushi, S.h. 2018. Color, Flavonoida, phenolics and antioxidants of Omani honey. Volume4,Issue 10, e00874.

9- Al-Ghamdi, A. S. E. Mohammed, M. J. and Ansariand N. Adgaba. 2017. Comparison of Physicochemical properties and affects of heating on stored Apis mellifera and Apis fiorea honey . *Soudi journal of Biological Sciences*, 26: 845.

10- Amir,Y,A. Yesli, M. Bengana, R. Sadoudi and Amrouche, T. 2010. Physico-chemical and microbiological assessment of honey from Algeria. Electronic Journal of Environmental. *Agricultural and Food Chemistry*, 9:1-5.

11- Bakour,1M. Laaroussi, H. 1 Bouddine, T.1 Ousaaid, D. 1and Badiaa, L. Physicochemical Properties, Mineral Content, Antioxidant Activities, and Microbiological Quality of Bupleurum spinosum Gouan Honey from the Middle Atlas in Morocco. *Journal of Food Quality,*Volume 2020, Article ID 7609454, 12 pages

12- Blouch, A. Mahmood, R. Rafique, K. Asif Shaheen, F. Munir, M. Qayyum and A. Ali, R. (2016). Comparative analysis of physicochemical properties of honey from ecological zones and branded honey of Pakistan. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 9 (4): 40-49.

13- Boussaid, A. Chouaibi, M. Rezig, H and Donsi, F. 20014. Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various fioral origins from Tunisia. *Arabian Journal of chemistry* , 11:265-274.

14- Braga, D. C. Liberato, M. Lima, V and Araujo N.J. 2020. Analytical study of the physicochemical characteristics from Melipona subnitida D. honey in adequation to Brazilian law.*Food Science and Technology*, Print version ISSN0101-2061.

15- chua, L. s. Norrul, L. A. Rahaman, N .A. A. and Ti Tjih, E. T. 2013. Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with Their Biochemical Components. Article ID 313798.

16- DaSilva, P.M. Gauche, C. Gonzaga, L.V. Costa, A.C.O. and Fett, R. .2016. Honey Chemical composition, stability and authenticity.Food Chem.196, 309–323.

17- Dong, R.Y. Zheng, and B. Xu. 2013. Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources, *Food and Bioprocess Technology*, 6, 762-770.

18- Dubero, S. Minaleshawa, A. Mesfin, R and Twabech, Z. 2015. Total phenols and antioxidant activities of natural honey and propolis collected from different geographical regions of Ethiopia. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 29(2):163.

19- Elimam, A. M. AShati, A. and wed Alaerjani, M. A. 2020. Acacia honey from different altitudes ; total phenols and flavonoids, laser – induced El sohaimy,S.A. Masry, S.H.D.Shehata, M.G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from differet origins. *Annals Agricutural Sciences,* Volume fluorescence (LIF) spectra , and anticancer activity, 48(8); 0300060520943451.

20- Grigoryan, K. 2016. Safety of Traditional and Ethnic Foods(ed.). Academic Press.Yerevan12.Gzik ,A. 1996.Accumulation of proline and pattern of α-amino acids in sugar beetplantsin response to osmotic, water and salt stress. *Environmentaland and Experimental Botany,*36:29.

21- Gul, A and Pehlivan, T. 2018. Antioxidant activites of some monofloral honey types produced acrooss Turkey. *Saudi Journal of Biological Sciences*, Volume 25, Issu 6, pages 1056-1065.

22- Guler, A. Bakan, A. Nisbet, C. and Yavuz, O. 2007. Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (Saccharum officinarum L.) syrup. *Food Chemistry*, Vol, 105, pp: 1119–1125.

23- Kamaruddin, M. Y. Saba Zuhair, H. Makpol, S. and Anum Mohd, Y. Y. 2011. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. 16(8),6378-6395.

24- Mahfuza, sh. Solaman, Md. Alam, N. and IbrahimKhalil, Md. 2018. 5 Hydroxy methyl furfual (HMF) levels in honey and other food products:effects on bees and human health. *chmistry central Journal*, 12(1):35 .DOI:10.1186/s13065-018-0408-3.

25- Mekuanint, L and Meareg, A. 2019. Comparative evaluation of analytical methods for determining the antioxidant activites of honey: Areview. 2019. *Cogent Food & Agriculture*,Volume 5, Issu

26- Petrus, K. Schwartz, H and Sontag, G. 2011. Analysis of flavonoids in honey by HPLC coupled with coulometric electrode array detection and electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Bional.Chem*,400,2555-2563.

27- Rajchl, A. Drgová, L. Grégrová, A. Čížková, H. Ševčík, R and Voldřich, M. 2013. Rapid determination of 5-hydroxymethylfurfural by DART ionization with time-of-flight mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem*,405:4737–4745.

28- Salehnezhad, S.[1]*and Hosseinpour, S .2019.Characterization of Apitherapy Honey For Medical Applications Chermahini. DOI:10.26717/BJSTR.2019.22.003751.

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

30- Stagos, D [1] . Nikolaos, S [1] . Christina, T [1] . Stamatina, P [1] . Charalampos, A [1] and Alexandros, N [2] et al. 2018. Antibacterial and antioxidant activity of different types of honey derived from Mount Olympus in Greece, *International Journal of Molecular Medicine*, Aug;42(2):726-734.

31- Tariq, K[1]., Iqbal[2], S. and Fraz, [3*] M. 2022. Quantifying physicochemical properties of honey collected from different froral sources of ISLAMABAD and MARDAN REGIONS, *Jurnal Agroteknologi dan Perkebunan*, vol. 5(1): 10-19

32- White, J. W. 1994. The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. *Bee world*, 75:104-11.

Determining the physico-chemical properties and antioxidant activity of Alhagi, alfalfa and Astragalus honeys in Razavi Khorasan province.

Samira Bozorgi Kasgari[*1], Rahleh Rehbarian [*2], Nasser Mergan Azghadi[3], Mohammad Reza Shariati[4]

1- MSc Biochemistry, Payam Noor University, Tehran, Iran, E-mail: samirabozorgi10@yahoo.com
2- Assistant Professor of Biology Department, Payam Noor University, Tehran, Iran, E-mail: r_rahbarian@pnu.ac.ir
3- Deputy Director of Management and Resources Development, General Veterinary Department of Khorasan Razavi Province, Iran
4- Responsible for the fight against bee diseases, General Veterinary Department of Khorasan Razavi Province, Iran

Abstract

Honey is a bacteriostatic and antibacterial activity against various types of tumors,It acts in different molecular pathways that are involved in cell proliferation. The aim of this study was to determine the composition and investigating the physicochemical properties of 84 samples of natural plant honey (Alhagi, Astragalus, Alfalfa) in desert areas of northeastern Iran which were collected in the form of 4 geographical regions of Ibn Giahan. 7 samples of each type of honey were collected in each region and then the. physicochemical tasts such as moisture, brix, fructose to glucose ratio, sucrose, diastse (qualirative), HMF,were applied to those honeys. Also, total phenolic compounds were evaluated with Folin ciucaltive reagent, total flavonoid with aluminium chloride reagent and antioxidant activity was evaluated by DPPH method And the average results for each type of honey in each region were analyzed statistically. Alhagi honey of the 3 region had the lowest moisture content (13.57 %) compared to other samples, Alhagi honey of the 4 region had the lowes percentage of brix (82.60 %) and the highest average of phenolic acids (0.017 mg/GAE) and antioxidant activity (44.31%). Alfalfa honeys of region 2 had the highest average ratio of fructose to glucose (1.24%) and the lowest average sucrose (2.3%), and the Alhagi honeys from this region had the lowest average hydroxymethylfurfural (2.15mg/kg) and also all the samples They had diastasis enzyme activity honeys. According to the results of this research, it can be said that Alhagi honeys has the highest quality indicators. The high correlation coefficient between phenolic compounds and antioxidant activity shows that phenolic compounds are one of the most important indicators affecting the amount of antioxidant activity of honey, therefore, phenolic indices can be introduced as a suitable criterion for determining the amount of antioxidant activity of honey to evaluate the quality of honey.

Key words: Honey, antioxidant activity, physicochemical properties, Khorasan Razavi