مقاله تحقیقی

مقایسه میزان پرولین عسل در شش استان شمالی و شمال‌غربی ایران

فاطمه نعمتی [۱]، راضیه تقوی‌زاد [۲،*]، سعیده سیف هاشمی [۳]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
۲. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، شهر ری، ایران
۳. دانشگاه جامع علمی کاربردی صنعت غذایی تهران، تهران، ایران

* **مسؤول مکاتبات:** راضیه تقوی‌زاد، شهر ری، بزرگراه خلیج‌فارس، نرسیده به حرم مطهر، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهر ری، مجتمع یادگار امام، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، تلفن همراه: ۰۹۱۲۱۴۶۳۵۷۵، پست الکترونیکی: ra_taghavizad@yahoo.com

محل انجام تحقیق: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

تاریخ دریافت: ۸۹/۹/۷ تاریخ پذیرش:۹۰/۴/۴

چکیده

عسل، یک ماده غذایی ارزشمند شامل کربوهیدرات‌ها، آنزیم‌ها، آمینو اسیدها، اسیدهای آلی، مواد معدنی، ترکیبات آروماتیک، پیگمان‌ها، موم‌ها و دانه‌های گرده است. قسمت اعظم آمینو اسیدهای عسل را پرولین با میزان ۵۰ تا ۸۵ درصد تشکیل می‌دهد. پرولین، یک آنتی‌اکسیدان است. کمبود پرولین در بدن، موجب اختلال در ساختن کلاژن تاندون، استخوان و دندان می‌شود. هدف از این پژوهش، استفاده از میزان آمینو اسید پرولین در شناسایی عسل‌هایی با کیفیت بهتر بود. در این پژوهش، ۹ نمونه عسل طبیعی و بدون فرآوری از ایستگاه‌های کندوگذاری شش استان شمالی و شمال‌غربی ایران در اردبیل، مریوان، تبریز، طالقان، بوئین‌زهرا، سد لار، سیراچال، روستای اولی (شمال‌غرب تبریز، کیلومتر ۳۰) و روستای سفیدان (شمال‌غرب تبریز، کیلومتر ۲۰) جمع‌آوری شد. عسل‌ها از نظر میزان گلوکز، فروکتوز، pH، رطوبت، اسیدهای آزاد و پرولین مورد بررسی قرار گرفتند. سنجش پرولین، به روش جذب‌سنجی با اسپکتروفتومتر در ۵۱۰ نانومتر انجام شد. همه نمونه‌های عسل، با سه تکرار آزمایش شدند. نتایج حاصل، به روش تجزیه واریانس و آزمون مقایسه میانگین دانکن با احتساب دامنه اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS ارزیابی آماری شد. نتایج نشان داد محدوده تغییرات پرولین در نمونه‌ها ۵۳۸mg/kg -۱۷۷ است. حداقل میزان پرولین، در عسل «اردبیل» و حداکثر آن در عسل «سیراچال» مشاهده شد. همبستگی پرولین با pH، اسیدیته آزاد، قندها و رطوبت در عسل تمامی مناطق، معنی‌دار بود. پرولین در همه آن‌ها با رطوبت رابطه عکس داشت. بنابراین، با توجه به تنش‌های خشکی که در بسیاری از نقاط کشورمان وجود دارد، پرولین می‌تواند به عنوان یک شاخص نسبی عسل‌های طبیعی ایران به کار آید.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تنش خشکی، عسل، رطوبت

مقدمه

عسل از شهد گل‌ها تولید می‌شود. زنبورهای عسل، شهد را در بهار و تابستان و اوایل پاییز جمع‌آوری می‌کنند. بعضی از زنبورهای عسل، عسلک را که از ترشحات قندی درختان ساخته شده است، جمع‌آوری و وارد عسل می‌کنند (۱).

شهد گل‌ها مایعی است که از قندهای مختلف و مقدار کمی مواد دیگر مانند اسیدهای آمینه، مواد معدنی، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها، مواد رنگی و مقداری مواد عطری تشکیل شده است. ساکارز، گلوکز و فروکتوز، قندهای مهم شهد هستند (۲). تغییرات شهد گیاهان به سوی عسل با تبخیر آب از شهد به همراه افزایش قند اینورت است. همچنین، هیدرولیز ساکارز به وسیله اسیدها و آنزیم‌های حاصل از زنبور عسل انجام می‌شود که با ایزومریزاسیون گلوکز به فروکتوز همراه است. پروتئین عسل، از گیاه و زنبور عسل و اسید عسل توسط زنبور عسل تأمین می‌شود. مواد معدنی و ویتامین‌ها و ترکیبات آروماتیک عسل، از گیاهان است. آنزیم‌های عسل مانند کاتالاز از زنبور عسل حاصل می‌شود (۳). در جریان تغلیظ، زنبورها مقداری از ترشحات غدد بزاقی خود را با شهد مخلوط می‌سازند. این ترشحات، سرشار از آنزیم‌هایی هستند که پلی ساکاریدهای شهد را به قندهای ساده، یعنی فروکتوز و گلوکز تبدیل می‌کنند. مهم‌ترین این آنزیم‌ها انورتاز نام دارد (۴).

عسل دارای خواص ضدمیکروبی است. سه سیستم قدرت اسیدی، فشار اسمزی و اینهیبین با این خواص در عسل شناخته شده است. منشأ اسید تغییرات آنزیمی گلوکز به وسیله آنزیم گلوکز اکسیداز است که از غدد زیرحلقی زنبور کارگر ترشح می‌شود. گلوکونیک اسید، بیشترین مقدار را به خود اختصاص داده است (۵). فشار اسمزی در عسل به حدی بالا است که هر موجود تک سلولی در عسل به سبب خاصیت اسمزی، آب خود را از دست می‌دهد. ادامه آب گیری در نهایت موجود زنده را خواهد کشت. اینهیبین که همان خاصیت ضدمیکروبی عسل است، از تولید و تجمع هیدروژن پراکسید آنزیمی در شهد یا در عسل رقیق حاصل می‌شود (۶).

آمینواسیدها یک درصد عسل را تشکیل می‌دهند. پرولین، قسمت اعظم کل آمینو اسیدهای عسل را تشکیل می‌دهد. در کنار پرولین، ۲۶ آمینو اسید دیگر نیز در عسل وجود دارد. علاوه بر این که گرده منبع اصلی اسیدهای آمینه عسل می‌باشد، میزان پرولین به نکتار و عسلک نیز وابسته است (۷). پرولین، دومین پارامتر کیفی مهم عسل در استاندارد بین المللی (Codex alimentarius) است (۸).

وجود آمینو اسید پرولین در عسل، مهم‌ترین ویژگی بیوشیمیایی آن می‌باشد. نمونه عسلی که شامل ۱۰۰ mg پرولین در ۱۰۰۰ گرم عسل باشد، نشان‌دهنده تقلب با سوکروز است. اهمیت پرولین در تشخیص نمونه‌های عسل طبیعی و مصنوعی در مطالعات تأکید شده است (۹). Meda و همکاران (۲۰۰۵) در تحقیقاتی که انجام داده‌اند، میزان پرولین را از ۴۳۷/۸ تا ۲۱۶۹/۴ mg/kg با میانگین ۹۸۹/۵ ± ۴۰۱/۴ متغیر بدست آورده‌اند. آن‌ها همچنین پرولین را فراوان‌ترین آمینو اسید در عسل معرفی کرده‌اند و آن را یک استاندارد کمی برای محتوای عسل دانسته‌اند (۱۰).

بررسی محتوای پرولین عسل شامل سنجش سطح کلی اسیدهای آمینه آن بوده و همچنین می‌تواند به عنوان یک بررسی کیفی اضافی انجام شده، معیاری برای تخمین رسیدگی عسل باشد و به عنوان معرف برای تعیین تقلب شکر در عسل در نظر گرفته شود (۱۱).

اهمیت پرولین بدان جهت است که این آمینو اسید در بسیاری از اندام‌ها، به ویژه کلاژن تاندون‌ها، پوست، نواحی سخت دندان و استخوان، قرنیه چشم شرکت دارد (۱۲). کلاژن همچنین در ساختمان استخوان، بافت‌های پیوندی و دیواره مویرگ‌ها نقش مهمی را داراست (۱۳). اهمیت پرولین تا اندازه‌ای است که محتوای آن در گیاهان خوراکی به عنوان میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پذیرفته شده است (۱۴).

بعضی افراد در جذب پرولین، دچار نقص ژنتیکی هستند و این مسأله ایجاد عوارضی در بدن می‌کند. اگر پرولین در بدن به خوبی جذب نشود، دو نوع

افزایش پرولین خون (هیپرپرولینمی) را ایجاد می‌کند که در نیمی از مبتلایان به عقب‌ماندگی ذهنی، وجود دارد. در نوع اول، افزایش مختصر پرولین خون وجود دارد و در نوع دوم، ادرار حاوی کاتابولیت هیدروکسی پرولین است (۱۵).

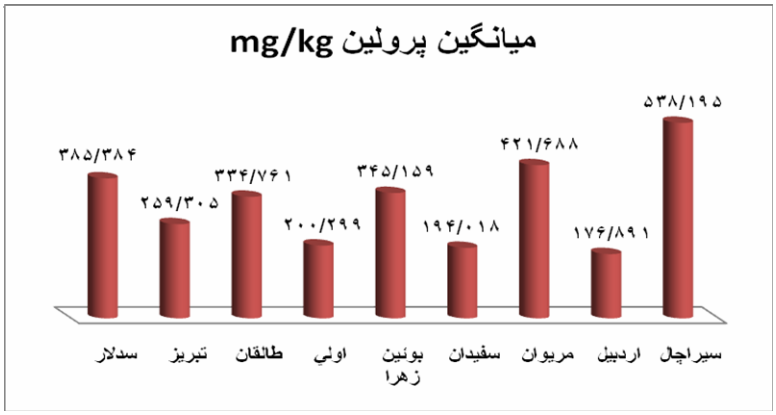
مواد و روش‌ها

۹ نمونه عسل از مناطقی که از جمله بیشترین تولیدکنندگان عسل در ایران هستند، انتخاب شد. این عسل‌ها مربوط به ۶ استان کشور، از ایستگاه‌های کندوگذاری اردبیل، مریوان، تبریز، طالقان، بوئین-زهرا، سد لار، سیراچال، روستای اولی (شمال‌غرب تبریز، کیلومتر ۳۰) و روستای سفیدان (شمال‌غرب تبریز، کیلومتر ۲۰) جمع‌آوری شدند. تمامی نمونه‌ها طبیعی و بدون هیچ‌گونه فرآوری بودند. نمونه‌ها تا زمان سنجش در شرایط دمای اتاق نگهداری شدند و از رُس زدن یا تولید کریستال در آنان مراقبت شد.

سنجش پرولین عسل به روش اسپکتروفتومتری با طول موج ۵۱۰ نانومتر (۱۶)، رطوبت نمونه‌های عسل، بر اساس استاندارد AOAC به وسیله دستگاه رفراکتومتر مدل DR-A1 ساخت شرکت ATAGO ژاپن (۱۷)، pH نمونه‌های عسل، بر اساس استاندارد به کمک دستگاه pH متر مدل WTW.servies: Inolab PH720 ساخت آلمان (۱۸)، اسیدیته آزاد نمونه‌های عسل، به روش تیتراسیون و سنجش قندهای گلوکز و فروکتوز، به روش تیتراسیون روی شعله انجام شد (۱۹). آزمون-های آماری همه نمونه‌های عسل مورد آزمایش، در سه تکرار انجام شد. نتایج حاصل به روش تجزیه واریانس و آزمون مقایسه میانگین دانکن با احتساب دامنه اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفتند.

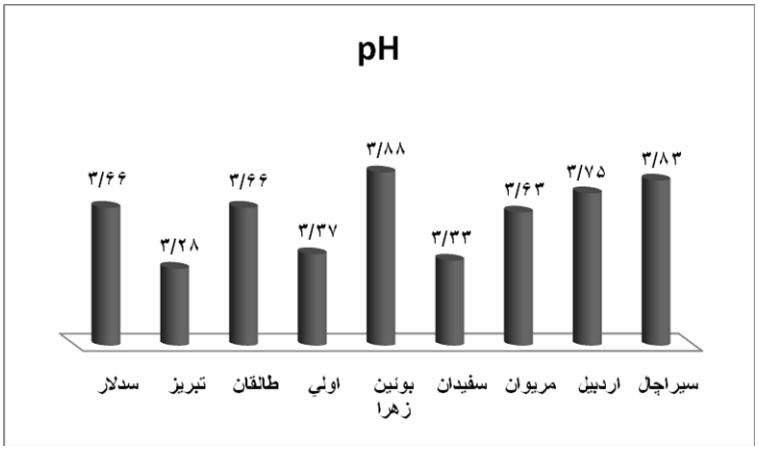
نتایج

میانگین میزان رطوبت، pH، اسیدهای آزاد، گلوکز، فروکتوز و در نهایت، پرولین عسل‌های هر یک از مناطق، تعیین شد. هر یک از موارد یاد شده به طور جداگانه در نمودار مقایسه‌ای آمده است (نمودارهای ۶ -۱).



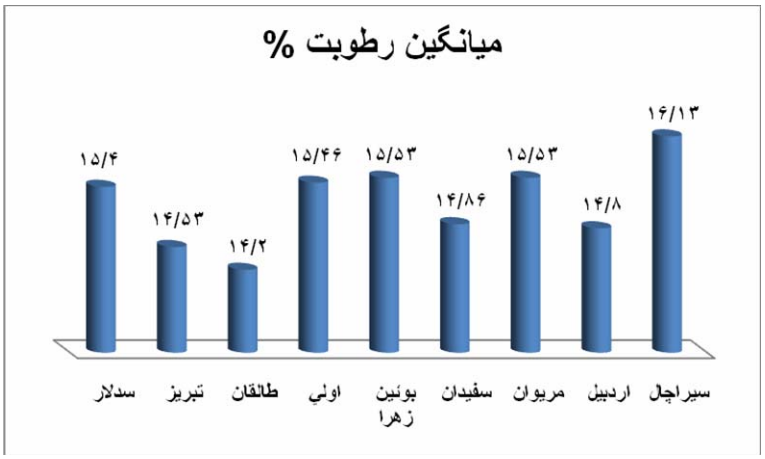
نمودار ۱ - مقایسه میانگین مقادیر پرولین نمونه‌های عسل ۹ ایستگاه کندوگذاری مختلف ایران. ■= میانگین پرولین به mg/kg.

همان‌گونه که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود، میانگین میزان پرولین، در طیفی از ۱۷۷mg/kg تا ۵۳۸ mg/kg قرار دارد. تفاوت در میزان پرولین مناطق به وضوح مشاهده می‌شود که این امر با توجه به طبیعی بودن همه عسل‌های مورد بررسی، جای بحث دارد. میزان pH همه عسل‌ها در نمودار ۲ آمده است. pH عسل‌ها در دامنه ۴-۳/۳ و اسیدی می-باشد. با توجه به این که یکی از راه‌های ضدعفونی-کنندگی و میکروب‌زدایی عسل، داشتن pH اسیدی است، اسیدیته نسبتاً قوی این عسل‌ها حایز اهمیت است.



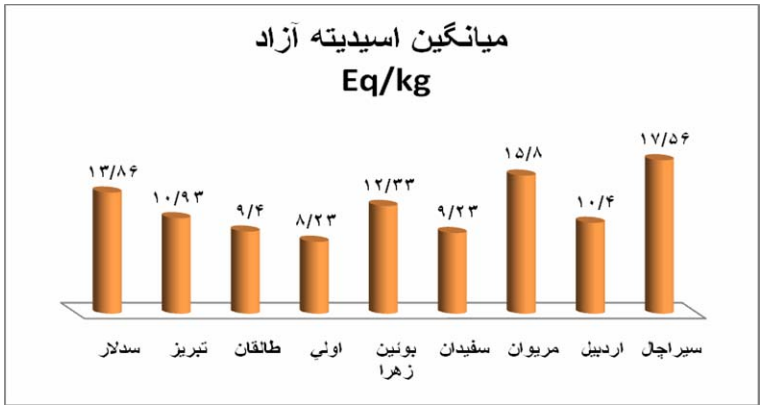
نمودار ۲ - مقایسه میانگین مقادیر pH نمونه‌های عسل ۹ ایستگاه کندوگذاری مختلف ایران. ■ = میانگین مقادیر pH.

سنجش مربوط به میزان رطوبت عسل‌ها در نمودار ۳ آمده است. میزان رطوبت عسل‌ها بین ۱۴/۲ تا ۱۶/۱۳ درصد است. این طیف رطوبتی برای عسل-های ایران بسیار مطلوب است، زیرا غلظت مناسبی به عسل می‌دهد تا در برابر تشکیل کریستال، مقاومت خوبی داشته باشد.



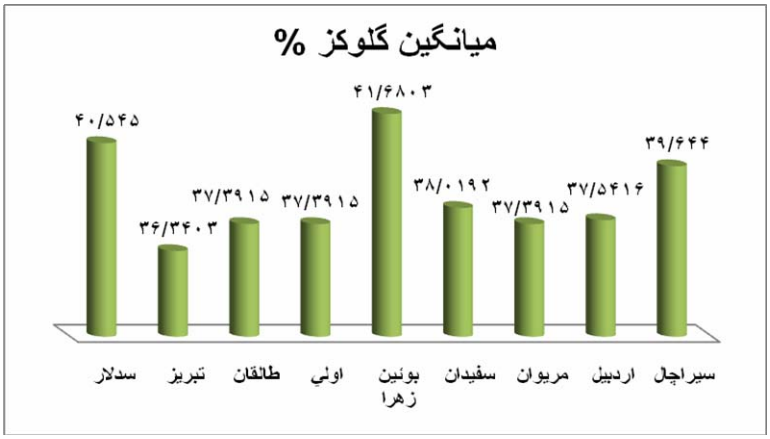
نمودار ۳ - مقایسه میانگین محتوای رطوبت نمونه‌های عسل ۹ ایستگاه کندوگذاری مختلف ایران. ■ = میانگین رطوبت به درصد.

در نمودار ۴، مقایسه میانگین مقادیر اسیدیته آزاد نمونه‌های عسل نشان داده شده است. میزان اسیدهای آزاد عسل‌ها در کمترین مقادیر ۹/۴Eq/kg و در بیشترین مقادیر، ۱۶/۱۳ Eq/kg بوده است. در عسل، بیشترین اسیدهای آزاد شامل اسیدهای آلی و اسیدهای آمینه است. با توجه به این که اسیدهای آزاد به مقدار کمی در سلول‌های جانوری وجود دارند، داشتن چنین میزانی از اسیدهای آزاد در عسل‌های ایران، حایز اهمیت است.



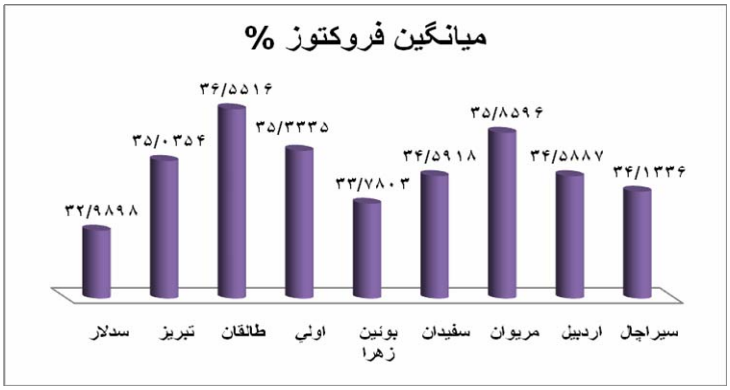
نمودار ۴ - مقایسه میانگین مقادیر اسیدیته آزاد نمونه‌های عسل ۹ ایستگاه کندوگذاری مختلف ایران. ■ = میانگین اسیدیته آزاد به Eq/kg.

همچنین، میزان گلوکز این نمونـه‌هـا سـنجش و مقایسه شد که در نمودار ۵ مشاهده می‌شود. گلـوکز نمونه‌ها در کمترین میزان، ۳۶ و در بیشترین حالـت، ۴۲ درصد بوده است.



نمودار ۵ - مقایسه میانگین مقادیر گلوکز نمونه‌های عسل ۹ ایستگاه کندوگذاری مختلف مختلف ایران. ■= میانگین گلوکز به درصد.

میزان فروکتوز نیز در این نمونه‌ها سنجش شد که در قالب نمودار ۶ مشاهده می‌شود. کمترین مقدار فروکتوز در این نمونه‌ها ۳۳ و بیشترین مقدار ۳۷ درصد است.



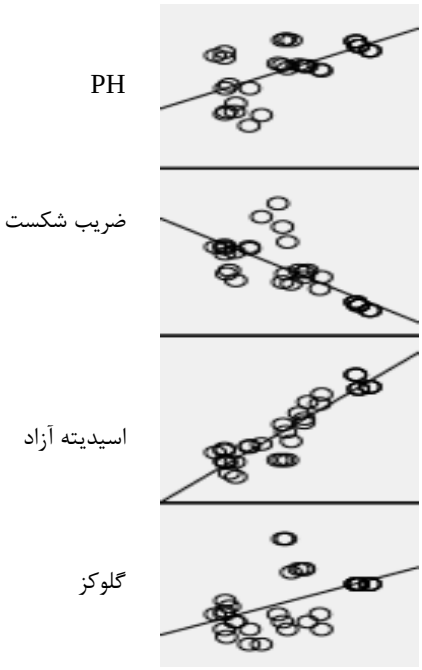
نمودار ۶ - مقایسه میانگین مقادیر فروکتوز نمونه‌های عسل ۹ شهر مختلف ایران. ■ = میانگین فروکتوز به درصد.

برآورد میـزان هـم‌بـستگی پـرولین بـا میـانگین فاکتورهای گلوکز، اسـیدیته آزاد، رطوبـت و pH، در جـدول ۱ و نمـودار ۷ آمـده اسـت. پـرولین بـا pH، اسـیدهای آزاد و گلـوکز همبـستگی دارد. پـرولین همچنین با رطوبت، هم بستگی از نوع معکوس دارد.

جدول ۱ - میزان هم‌بستگی پرولین و دیگر فاکتورهای سنجش شده نمونه‌های عسل.

گلوکز	اسیدهای آزاد	رطوبت	pH	فاکتورهای مورد بررسی
C= ۰/۴۶	C= ۰/۹	C= -۰/۶۹	C=۰/۶	پرولین

C = هم‌بستگی.



نمودار ۷ - هم‌بستگی پرولین عسل مورد بررسی با pH، ضریب شکست ، اسیدیته آزاد و گلوکز.

بحث

در این پژوهش، در مقایسه همبستگی میان میزان پرولین با pH، رطوبت، اسیدیته آزاد و گلوکز عسل، مشاهده شد که پرولین با اسیدیته آزاد، بیشترین هم‌بستگی، یعنی ۰/۹ را داراست. با توجه به این که اسیدهای آزاد عسل عمدتاً شامل اسیدهای آلی و اسیدهای آمینه‌اند، بنابراین، پرولین در فراوانترین میزان به عنوان یک اسید آمینه آزاد در عسل این پژوهش بوده است. این مطلب در تحقیقات Diminis و همکاران (۲۰۰۸) آن چنان عینیت یافته است که اعلام داشته‌اند«آمینو اسید پرولین یکی از آمینو اسیدهای اصلی عسل طبیعی است. بنابراین، محتوای پرولین می‌تواند به عنوان معیار سنجش کیفیت عسل باشد» (۲۰). Nanda و همکاران (۲۰۰۹) نیز در تحقیقات خود، سنجش پرولین عسل را یکی از معیارهای فیزیکوشیمیایی برای طبقه‌بندی عسل دانستند (۲۱). بررسی‌های ما همچنین با نظر Anklam (۱۹۹۸) هم‌سویی دارد که اعلام کرده است «پرولین قسمت اعظم اسیدهای آمینه آزاد عسل را تشکیل می‌دهد» (۷).

هم‌بستگی میان میزان پرولین و رطوبت به میزان ۰/۶۹- معنی‌دار و معکوس بوده است. به این معنی که در شرایط وجود رطوبت کافی، پرولین کاهش می‌یابد. در توجیه این موضوع باید گفت که پرولین، یک آمینو اسید استرسی است. به این معنی که در شرایط استرسی و برای مقابله با آن، در گیاه ساخته می‌شود تا مقاومت گیاه را افزایش دهد. بدیهی است که میزان رطوبت عسل، تابعی از رطوبت محیط و یا رطوبت فصل برداشت عسل است. اما احتمالاً افزایش و یا کاهش پرولین بستگی به موقعیت‌های محیطی و استرسی دارد که گیاه در آن قرار می‌گیرد. Zhang و همکاران (۲۰۰۵) اعلام داشته‌اند که «پرولین هیدروفیلیک‌تر از سایر آمینو اسیدها است» (۲۲). پرولین آزاد در بسیاری از گیاهان در پاسخ به پتانسیل آبی کم (مثل خشکی و شوری) به مقدار زیاد تجمع می‌یابد (۱۵، ۲۳). Gzik (۱۹۹۶) عنوان کرد «در شرایط تنشی، با آغاز کاهش پتانسیل آبی برگ، افزایش سریع پرولین به طور همزمان روی می‌دهد» (۲۴). نگرش این محققین نیز با نتایج به دست آمده در این پژوهش همسویی دارد.

بنابراین، طبیعی خواهد بود که میزان پرولین در شهد نیز به علت استرس خشکی افزایش یابد و با رطوبت رابطه معکوس داشته باشد. در مجموع می‌توان انتظار داشت عسل مناطقی که خشک‌ترند و یا از کاهش چشمگیر بارش در یک‌سال برخوردار شده‌اند، دارای میزان پرولین بیشتری باشند. پس، در نظر گرفتن پرولین به عنوان یکی از شاخص‌های مهم برای تعیین کیفیت عسل، امری منطقی است.

در مورد ارتباط میان پرولین و pH، همبستگی ۰/۶ و معنی‌دار است. بدیهی است که pH عسل، نقش حفاظتی و ممانعت‌کنندگی در برابر میکروب‌ها دارد. از طرفی pH اسیدی عسل سبب یونیزه‌شدن برخی ترکیبات می‌شود. یون‌های ایجاد شده قادرند آنزیم‌ها و پروتئین‌ها را تحت تأثیر قرار داده و تجزیه کنند. اما با دخالت و افزایش پرولین احتمالاً به نوعی، مقاومت حاصل شده و از تخریب آنزیم‌ها جلوگیری می‌شود. چون پرولین در شرایط استرسی و برای رفع آن حالات ایجاد می‌شود. Wallace (۱۹۸۷) عنوان کرده است «پرولین، فعالیت یون‌ها روی آنزیم‌ها را کاهش داده، باعث افزایش و پایداری آنزیم‌ها در دمای بالا می‌شود» (۲۵). Beer, Solomon (۱۹۹۴) و Paul و Hasegava (۱۹۹۶) اعلام کرده‌اند «پرولین باعث پایداری فرم طبیعی پروتئین‌ها شده، از به‌هم‌خوردن شکل طبیعی ترکیبات آنزیمی ممانعت می‌کند» (۲۶،۲۷).

Stewart وLee (۱۹۷۴) اعلام کردند «پرولین به خاطر ایفای نقش اسمزی، اثرات مفیدی را در گیاه تحت تنش ایفا می‌کند» (۲۸). Delauney و Verma (۱۹۹۳) اعلام کردند «پرولین به عنوان یک متابولیت مهم، در تعدیل فشار اسمزی سلول تحت تنش، مانند کاهش دما، کمبود مواد غذایی، قرار گرفتن در معرض فلزات سنگین و اسیدیته زیاد نقش اساسی دارد» (۲۹). بنابراین، چون پرولین یک تعدیل کننده فشار اسمزی است، به دنبال افزایش گلوکز، میزان آن در گیاه و به تبع آن در عسل بالا می‌رود. سپس پرولین، با ویژگی هیدروفیلیکی خود، آب جذب می‌کند و عسل را در شرایط نرمال غلظت گلوکز، نگه می‌دارد.

در ایران نیز به علت داشتن اقالیم متنوع و فراوانی حوادث طبیعی پیش‌بینی نشده، گیاهان در معرض تنش‌های محیطی زیادی هستند. به این دلیل می‌توان پرولین را در کنار دیگر مقیاس‌های مختلف عسل برای تعیین کیفیت عسل به کار گرفت و تا حد زیادی عسل طبیعی با کیفیت بهتر را از غیر آن تشخیص داد.

در این پژوهش مشاهده شد که حداقل میزان پرولین مربوط به عسل «اردبیل» بود. ایستگاه جمع‌آوری عسل آن در اقلیم نیمه‌مرطوب قرار داشت و حداکثر میزان پرولین در عسل «سیراچال» مشاهده شد که دارای اقلیم نیمه‌خشک است.

پرولین، یک اسید آمینه آزاد غیر ضروری است، به این معنی که هم در سلول‌های پیکر جانوران و هم در گیاهان ساخته می‌شود. در اهمیت پرولین همین بس که در گیاهان در شرایط استرسی، نقش تعیین کننده دارد و در جانوران به طور خودکفا ساخته می‌شود. پرولین عسل غالباً منشأ گیاهی داشته و مربوط به گرده یا شهد است. بنابراین، چون پرولین به طور اجتناب‌ناپذیر توسط زنبور عسل از گیاهان وارد عسل

می‌شود، حضور آن در عسل، طبیعی و در حد و اندازه قابل پیش‌بینی، حتمی است.

پرولین، یک آنتی‌اکسیدان به شمار می‌آید و در ساختار کلاژن تاندون، دندان و استخوان وجود دارد. بنابراین اگر در برنامه غذایی خود عسلی را بگنجانیم که هم حاوی یک آمینو اسید مهم به میزان زیاد باشد که عدم وجود آن در بدن ایجاد عارضه‌هایی را می‌کند و هم یک شناساگر عسل طبیعی از غیرطبیعی باشد، بسیار زیرکانه و عاقلانه خواهد بود.

در این پژوهش، ۹ نمونه عسل بر اساس این که غالباً عسل‌های طبیعی این مناطق مورد توجه مردم هستند، انتخاب شد. در مقایسه مشخص شد میانگین حداقل و حداکثر میزان پرولین در نمونه‌ها ۱۷۷-۵۳۸mg/kg است. این دامنه نوسان پرولین مطابق با آمار ارائه شده جهانی است؛ به طوری که «استاندارد بین‌المللی» آن را به عنوان یک استاندارد برای عسل پذیرفته است. چنان که Bogdanov و همکاران (۱۹۹۵) در پژوهش‌های خود به این نتیجه رسیده‌اند که اگر مقدار پرولین عسل کمتر از حدود ۱۸۰mg/kg باشد، تغذیه زنبور عسل، طبیعی نیست (۳۰). در جهان امروز که با افزایش جمعیت، تأمین غذا یک معضل مهم به شمار می‌آید، باید عسل طبیعی را به دلیل این که معجونی از اکثر مواد مورد نیاز انسان است، همواره در برنامه غذایی گنجاند و به مصرف‌کنندگان آن اطمینان خاطر داد، برخلاف تصوراتی که در گذشته وجود داشته است، می‌توان راه‌های کنترلی برای تضمین سلامت آن داشت که از آن جمله، تشخیص میزان پرولین است.

تقدیر و تشکر

از جناب آقای دکتر حسن نظریان عضو هیأت علمی وزارت جهاد کشاورزی، مرکز آموزش عالی امام خمینی(ره) کرج که نمونه‌های عسل این پژوهش را در اختیارمان قرار دادند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1. Broadhurst, G. L., 2000. Health and healing with bee products. first puplished in 2000 by Alive Books. 32-39.
2. Shivanna, K. R., 2003. Pollen Biology and Biotechnology. Science Publishers, inc. USA. 41: 231-235.
3. Belitz, B., Grosch, W., Schieberle, P., 2004. Food chemistry. 3rd revised edition. Pub date: jan 2004. Publisher: Springer-verlag. p: 883-890.
4. Darrigol, L. J., 1987. Le miel pour votre sante. P. 79-114.
5. Thompson, A., Anno, K., Wolfrom, L., Inatome, M., 1954. Acid reversion products from D-glucose. Journal of the American Chemical Society 76: 1309-1311.
6. White, J. W., Subers, M. H., 1963. Studies on honey inhibine. 2. A chemical assay. Journal of Apicultural Research 2: 93-100.
7. Anklam, E., 1998. A review of the analytical methods to determine the geographical and botanical origin of honey. Food Chemistry 63: 549-562.
8. Guler, A., Bakan, A., Nisbet, C., Yaruz, O., 2007. Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose. J Food Chemistry 105: 1119-1125.
9. Basoglu, F. N., Sorkun, K., Loker, M., Dogan, C., Wetherilt, H., 1996. Saf ve sahte ballarin ayirt edilmesinde fiziksel, kimyasal ve palinolojik kriterlerin saptanmasi. Gida 21: 67-73.
10. Meda, A., Euloge Lamien, C., Romito, M., Millogo, J., Germaine, N. O., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. J Food Chemistry 91: 571-577.
11. Bogdanov, S., 1999. Harmonised methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Center, FAM, Liebefeld, CH-3003 Bern, Switzerland.
12. Marray, R., Granner, D., Mayes, P., Rod, W., 1996. Harper's Biochemistry. Alang Medical Book. 24th edition Pub date: 6 jul. Publisher: McGraw-Hill Medical. P. 408-412.
13. Devlin, T., 2006. Textbook of Biochemistry with clinical correlations. 6th edition.
14. Cook, J. A., Vanderjagt, D. J., Pastuszyn, A., Mounkaila, G., Glew, R. S., Millson, M., Glew, R. H., 2000. Nutrient and

chemical composition of 13 wild plant foods of Niger. Journal of Food Composition and Analysis 13: 83- 92.
15. Kuznetsov, V., Shevyakova, N. I., 1999. Proline under stress: Biological role, metabolism and regulation. Russian Journal of Plant Physiology 46: 274-286.
16. Din Commission, 2002. Din standard for determination of proline content of honey. Din Stan, p. 10754.
17. O. A. C., 1980. Method 969. 38. B. Of analysis of humidity of honey.
18. Codex Alimentarius Commission., 2001. Codex standard for honey. Codex stan 12.
19. O. A. C., 1980. Method 997. 20 analysis of hydrocarbon in honey.
20. Diminis, F., Kuka, P., Cakste, I., Augspole, I., 2008. Use physical and chemical parameters for the characteristic of honey quality. Journal of Food Physics. 27-29.
21. Nanda, V., Singh, B., Kukreja, V. K., Bawa, A. S., 2009. Characterization of honey produced from different fruit plants of northern India. International J of Food Science and Technology 44: 2629-2636.
22. Zhang,Y., Zhang, P., Robert, C., Ford, S. H., Han, J., Li, C., 2005. Neutron spectroscopic and Raman studies of interaction between water and proline. Chemical Physics 345: 196.
23. Ranny, T. G., Bassuk, N. L., Whitlow, T. H., 1991. Osmotic adjustment and solute contributes in leaves and roots of water-stressed cherry (prunus) trees. Journal of the American Society for Horticultural Science 116: 684- 688.
24. Gzik, A., 1996. Accumulation of proline and pattern of amino acids in sugar beet plants in response to osmotic, water and salt stress. Environmental and Experimental Botany 36: 29-34.
25. Wallace, D. M., 1987. Large and Small, scalle Phenol Extractions. Methods Enzymol 152: 33-40.
26. Solomon, A., Beer, S., 1994. Effect of NaCl on the carboxylating activity of Rubisco and absence of proline related compatible solutes plant. Physiol 108: 1387-1394.
27. Paul, M., Hasegava, A., 1996. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Ann Rev Plant Physiol. Plantmol Boil 51: 463-499.
28. Stewart, C. R., Lee, S. A., 1974. The role of proline accumulation in halophytes. Planta 120: 279-289.
29. Delauney, A. J., Verma, D. P. S., 1993. Proline biosynthesis and osmo-regulation in plants. Plant J 4: 215-223.
30. Bogdanov, S., Bieri, K., Figar, M., Figueiredo, V., If, D., Kanzig, A., 1995. Miel: definition et directives pour lanaly se etlappreciation. Centre Suisse de recherche Apicole. Station de recherché laitieres, Liebefeld, CH-3003 Berne.