

فعالیت آنتی اکسیدانی، ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و ضد میکروبی عسل در دو فصل از مناطق مختلف استان خراسان

شادی بصیری^{۱*}، فرزاد غیبی^۱، نوید بصیری^۲

۱- استادیار پژوهش، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی، سازمان

تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران

۲- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد زاهدان، گروه علوم آزمایشگاهی، زاهدان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۰/۰۸)

چکیده

عسل یک فراورده غذایی مفید است و از قدیم جایگاه خاصی در رژیم غذایی انسان داشته است. عسل‌های برداشت شده در مناطق و همچنین در زمان‌های مختلف، دارای خواص ویژه بوده که منتج از عواملی نظیر پراکندگی گلی موجود در منطقه و شرایط جغرافیایی آن می باشد. از این رو هدف از انجام این پژوهش، بررسی تاثیر منطقه تولید عسل در دو بازه زمانی، بر خواص فیزیکوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عسل طبیعی می باشد. نمونه‌های عسل از سه شهرستان کاشمر، شیروان و نیشابور در استان خراسان رضوی که دارای شرایط جغرافیایی، دمایی و پوشش گیاهی مختلف بودند، در دو فصل پاییز و بهار در طول یک سال برداشت شدند. عسل‌ها کاملاً خالص و از گل‌های طبیعی موجود در منطقه تهیه شدند. نتایج نشان داد که نمونه‌های عسل بهار با رطوبت ۱۶/۶ درصد و مواد جامد محلول ۸۱/۳۶ درصد، به ترتیب بیشترین و کمترین میزان رطوبت و بریکس را نسبت به عسل‌های فصل پاییز داشتند. همچنین عسل‌های بهار با شدت رنگ ۰/۰۰۵ درصد، دارای رنگ روشن‌تر نسبت به نمونه‌های پاییزه بودند. عسل‌های بهار دارای ترکیبات فنلی بیشتر (۰/۰۶۷ میلی گرم در کیلوگرم) و بالطبع قدرت آنتی اکسیدانی بالاتر (۶۱/۱۸۵۶) و خاصیت آنتی باکتریایی زیاده‌تر (۱۰۰ درصد) نسبت به نمونه‌های عسل پاییزه، بودند. عسل کاشمر دارای بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی (۵۴/۳) و عسل نیشابور بیشترین مقدار ترکیبات فنلی (۰/۰۵۲ mg/kg) را داشت. اثر ضد میکروبی نمونه‌های عسل شیروان با فراوانی ۸۳/۳۳ درصد، در بیشترین مقدار بود. نمونه‌های عسل فاقد باکتری‌های بی‌هوازی احیاءکننده سولفیت بودند که نشان‌دهنده کیفیت مناسب میکروبی نمونه‌های عسل و مدیریت بهداشتی صحیح در فراوری آن بود.

کلید واژگان: آنتی اکسیدانی، خاصیت ضد میکروبی، زمان برداشت عسل، منطقه برداشت عسل، فیزیکوشیمیایی.

* مسئول مکاتبات: shbasiri35@yahoo.com

۱- مقدمه

عسل عبارت است از ماده شیرین طبیعی که توسط زنبور عسل از شهد گلها جمع آوری و با مواد خاصی در بدن خود ترکیب و در کندوی عسل ذخیره میکند. منظور از عمل آوری، اضافه کردن آنزیم های مختلف و تبخیر رطوبت اضافی و رساندن آن به وسیله زنبور عسل است [۱]. عسل یک محصول غذایی مفید است که از قرنهای پیش به عنوان یکی از قویترین غذاها شناخته شد. در فرهنگ ما نیز از قدیم الایام مصرف عسل در رژیم غذایی و یا رژیم درمانی از جایگاه خاصی برخوردار بوده است. کیفیت عسل بر حسب این که زنبور از کدام گل و یا ماده غذایی استفاده کند، متفاوت خواهد بود. عسل محصولی با ارزش، مغذی و پرانرژی بوده و دارای خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی است که میتواند به صورت مستقیم و یا به عنوان شیرین کننده و نگهدارنده در تولید مواد غذایی مورد استفاده قرار بگیرد [۲].

آنتی اکسیدانها، موادی هستند که قادرند با آثار سوء ناشی از فرآیند اکسیداسیون در بافتها مقابله کنند. برخی تحقیقات وجود مواد آنتی اکسیدان موجود در عسل را اثبات نموده اند. فعالیت آنتی اکسیدانی گلوکز اکسیداز، کاتالاز، آسکوربیک اسید، فنولیک اسیدها، فلاونوئیدها، آمینواسیدها و پروتئین های موجود در عسل تایید شده است. به نظر می رسد مهمترین آنتی اکسیدان موجود در عسل فنولها باشند [۳].

تعداد گونه های میکروبی مقاوم به آنتی بیوتیکها هر روز بیشتر می شوند، لذا نیاز به مواد ضد باکتری جدید و کم ضرر هر روز بیشتر نمایان می شود. در بسیاری از گزارشات پژوهشی، توانایی عسل در ممانعت از رشد میکروارگانیسمها حتی در مواردی که داروهای ضد باکتریایی رایج مؤثر نبوده اند بیان شده است [۴ و ۵].

بسیاری از پژوهشگران مطالعات زیادی بر خواص فیزیکی و شیمیایی انواع مختلف عسل داشته اند. ترکیب شیمیایی و کیفیت عسل بستگی به عوامل مختلف نظیر منطقه جغرافیایی و پوشش گل های آن، شرایط آب و هوایی در طی تولید عسل، ترکیبات نکتار، شیوه های پرورش زنبور عسل و فراوری عسل و نحوه حمل و نقل آن، دارد [۶].

عسل معمولاً بر اساس ترکیبات تشکیل دهنده، مورد ارزیابی قرار می گیرد. این ترکیبات شاخص بر بافت، طعم، کیفیت نگهداری و تغذیه ای عسل تاثیر گذاشته و برای تشخیص و مقایسه عسل طبیعی از تقلبی اهمیت دارد [۷].

خواص فیزیکی عسل ها بستگی به مقدار آب و نوع فلورگلی مرتع، درجه حرارت و نسبت بین قندهای موجود در عسل دارد. اختلاف رنگ عسل تقریباً مربوط به نوع گیاهی است که مورد استفاده زنبور برای تهیه عسل می باشد. هر چند که آب و هوا ممکن است رنگ را تغییر دهد به طوری که گرما تا حدودی باعث تیره شدن رنگ میشود. طعم و عطر عسل مانند رنگ تحت تاثیر نوع گیاهی است که مورد استفاده قرار می گیرد [۸].

سورکان^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۱، مشخصات فیزیکوشیمیایی ۹ نمونه عسل از مناطق مختلف ترکیه را که از شهد درخت اکالیپتوس تهیه شده بودند را مورد ارزیابی قرار دادند [۹]. بلوچ^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۶، خواص فیزیکوشیمیایی عسل با نام های مختلف تجاری را در پاکستان بررسی و با استانداردهای کدکس اروپا مقایسه کردند [۱۰]. در این دو مقاله پارامترهای فیزیکی، شیمیایی و اندیس های کیفی عسل ها (رطوبت، اسیدیته، pH، خاکستر، ساکارز، قند کل، هدایت الکتریکی، ...) مطابق متدهای استاندارد جهانی از جمله AOAC اندازه گیری و بررسی شدند. آمار و اعداد برای مقایسه و ارزیابی کیفی نمونه های موجود در پژوهش حاضر ضرورت داشت.

هدف از این تحقیق، تعیین اثر منطقه تولید عسل در دو زمان مختلف بر خواص فیزیکوشیمیایی، ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی عسل طبیعی بود.

۲- مواد و روش ها

مقاله پژوهشی موجود حاصل تحقیقات انجام شده توسط همکاران بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی خراسان رضوی در بازه زمانی سال ۱۳۹۵ بود.

۲-۱- جمع آوری نمونه های عسل

نمونه های عسل در این پژوهش از سه منطقه مختلف از استان خراسان رضوی از جمله شهرستان های شیروان، کاشمر و نیشابور

نمونه مورد آزمایش تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب کرده تا درصد خاکستر (مواد معدنی) به دست آید (استاندارد ملی ایران شماره ۹۲).

۶- اندازه گیری قند احیا:

۱ گرم نمونه عسل را پس از حل شدن کامل در آب به بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری انتقال داده و تا خط نشانه به حجم رسانده و با هم زدن یکنواخت شد. بورت ۵۰ میلی لیتری را از آن پر کرده و ۵ میلی لیتر محلول فهلینگ A و ۵ میلی لیتر محلول فهلینگ B را در ارلن مایر ۲۵۰ میلی لیتر ریخته و با محلول تهیه شده داخل بورت در حضور متیلن بلو تیتراسیون انجام شد (استاندارد ملی ایران شماره ۹۲). درصد قندهای احیا کننده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$S = F \times 250 \times 100 / V \times W \times 1000$$

S = قندهای احیا کننده در ۱۰۰ گرم نمونه عسل
F = عیار فهلینگ = میلی لیتر مصرفی بورت W = وزن نمونه عسل (۱ گرم) = ۱۰۰۰ = تبدیل میلی گرم به گرم
۷- اندازه گیری مقدار گلوکز:

از محلول نمونه عسل آزمون قند احیا، ۲۵ میلی لیتر برداشته و در ارلن ۲۵۰ میلی لیتری ریخته و ۲۰ میلی لیتر ید ۰/۱ نرمال و ۵ میلی لیتر سود ۰/۵ نرمال به آن اضافه شد. ارلن به مدت ۱۵ دقیقه در تاریکی نگهداری شد. سپس ۵ میلی لیتر اسیدسولفوریک ۲ نرمال اضافه و با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۱ نرمال به کمک چسب نشاسته تیتراژ کرده تا محلول بیرنگ شود. درصد گلوکز موجود در نمونه از فرمول زیر به دست می آید (استاندارد ملی ایران شماره ۹۲).

$$G = 250 \times 9.01 \times D \times 100 / 25 \times W \times 1000$$

W = وزن نمونه عسل (۱ گرم) D = تفاوت تیتراسیون تیوسولفات سدیم مصرفی و شاهد
۸- اندازه گیری مقدار فروکتوز:

مقدار قندهای احیا کننده قبل از هیدرولیز منهای مقدار گلوکز، مقدار فروکتوز به دست می آید. نسبت فروکتوز به گلوکز از تقسیم درصد فروکتوز بر درصد گلوکز به دست می آید (استاندارد ملی ایران شماره ۹۲).

۹- ترکیبات فنلی: اندازه گیری به روش اسپکتروفتومتری و جذب نمونه محلول در طول موج ۷۶۰ نانومتر انجام شد [۱۱].

در دو زمان مختلف برداشت عسل، یعنی بهار و پاییز سال ۱۳۹۵ به صورت مستقیم از زنبورداران منطقه تهیه شدند. عسل ها کاملاً خالص بوده و از گل های طبیعی موجود در منطقه تحت شرایط کنترل شده تهیه شدند. نمونه های عسل در محل تاریک و خنک در دمای محیط نگهداری شدند تا آزمایشات اولیه روی آنها انجام شود.

۲-۲- روش ها

در این پژوهش خواص فیزیکوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و میکروبی عسل ها بر اساس روش های مندرج در استاندارد ملی ایران (شماره ۹۲، ویرایش هفتم) به شرح زیر اندازه گیری و مورد ارزیابی قرار گرفتند.

۲-۲-۱- روش های آزمون:

۱- رطوبت: در این پژوهش درصد رطوبت موجود در نمونه های عسل با استفاده از روش رفراکتومتری اندازه گیری شد. بدین ترتیب که اندیس رفراکسیون نمونه عسل را در ۲۰ درجه سانتیگراد توسط رفراکتومتر اندازه گیری و سپس درصد رطوبت مربوط به آن اندیس از روی جدول مربوطه تعیین خواهد شد.

۲- بریکس یا درصد مواد جامد محلول: بریکس نمونه های عسل با استفاده از دستگاه رفراکتومتر رومیزی مدل Shouchittangliang ساخت کشور چین، تعیین شد.

۳- اندازه گیری pH:

مقداری عسل (حدود ۱۰ گرم) در یک بشر و در ۷۵ میلی لیتر آب مقطر حل کرده و به کمک دستگاه pH متر که از قبل با بافر ۴ و ۷ کالیبره شده است میزان pH در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد اندازه گیری شد (استاندارد ملی ایران شماره ۹۲).

۴- اندازه گیری اسیدیته:

۱۰ گرم نمونه عسل را در ۷۵ میلی لیتر آب مقطر حل کرده در مجاورت فنل فتالین تا رسیدن به pH ۸/۳ با سود ۰/۱ نرمال تیتراژ گردید. وزن نمونه / میلی لیتر سود ۰/۱ نرمال $\times 1000 =$ اسیدیته کل (درصد)

۵- اندازه گیری خاکستر:

مقدار ۵ گرم عسل را در یک بوته چینی که قبلاً به وزن ثابت رسیده، وزن کرده و در دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد آنقدر سوزانده شود تا خاکستر سفید به دست بیاید و به وزن ثابت برسد. تفاوت وزن بوته خالی و بوته محتوی خاکستر را به وزن

فصل بهار بود. بیشترین کیفیت هر نمونه عسل تحت تاثیر طعم و رنگ آن است. رنگ هر نوع عسل نیز بستگی به موقعیت جغرافیایی، نوع گیاه، میزان بارندگی، شرایط خاک و زمان برداشت عسل دارد. همچنین اختلاف در رنگ و قوام عسل تحت تاثیر نوع گل است که با عواملی نظیر آب و هوا و شرایط محیطی تغییر می‌کند [۱۵].

بارندگی زیاد باعث افزایش رطوبت و در نهایت روشن شدن رنگ می‌شود. رنگ عسل از طلایی روشن در زمان برداشت بهار تا رنگ بسیار تیره در زمان تابستان و اوایل پاییز متغیر است. رنگ‌های متداول تایید شده برای عسل، از سوی انجمن ملی عسل به صورت سفید آبی، سفید، کهربایی فوق‌العاده روشن، کهربایی روشن، کهربایی، کهربایی تیره طبقه‌بندی شده است [۱۶].

رطوبت یکی از مهمترین ویژگیهای فیزیکوشیمیایی عسل بوده و معیار خوبی برای بررسی کیفیت عسل می‌باشد. رطوبت طبیعی موجود در عسل، به آب و هوای منطقه و رطوبت شهدی که از آن عسل از جمله ماندگاری، رنگ، گرانبوی، بو، چگالی و ضریب شکست نیز تاثیر می‌گذارد. رطوبت در افزایش مدت ماندگاری عسل در حین زمان نگهداری بسیار مهم است. از سوی دیگر عسل یک ترکیب ناپذیر^۲ است، یعنی بسته به شرایط جوی، مرطوب یا خشک، هم قادر به جذب رطوبت و هم قادر به از دست دادن آن است. بیشتر نمونه های عسل، رطوبت زیر ۲۰ درصد دارند [۱۷].

رطوبت زیاد در عسل می‌تواند باعث تخمیر نامطلوب عسل در حین نگهداری و تولید دی اکسیدکربن و اتانول شود. الکل تولیدی به اسید استیک و آب اکسیده شده و باعث طعم ترش در عسل میشود [۱۸].

رطوبت زیاد می‌تواند کریستالیزاسیون را در انواع عسل تسریع کرده و فعالیت آبی آن را تا مقداری که برخی از مخمرها بتوانند در آن رشد کنند افزایش دهد [۱۹]. مقدار رطوبت پایین عسل یک عامل مهم کمک کننده به ثبات آن در برابر تخمیر و تبلور در طی نگهداری می‌باشد [۲۰].

۱۰- اسپور کلسترییدیوم‌های احیا کننده سولفیت: از نمونه‌های عسل در محیط کشت^۱ SPS agar به صورت پورپلنت دولایه‌ای کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت به صورت بی‌هوازی انکوبه شد [۱۲].

۱۱- رنگ: رنگ نمونه‌ها با قرائت جذب محلول ۵۰ درصد وزنی - حجمی نمونه‌های عسل با استفاده از اسپکتروفتومتر، Vis-UV مدل 9200-UV (Rayleigh چین) در طول موج ۶۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۳].

۱۲- قدرت ضد باکتری: اثرات ضدباکتری نمونه‌های عسل بر باکتریهای گرم مثبت (باسیلوس سوبتیلیس) و گرم منفی (اشرشیا کلی) از روش Agar well assay diffusion مورد ارزیابی قرار گرفت.

۱۳- قدرت آنٹی اکسیدانی: قدرت گیرندگی رادیکال‌های آزاد DPPH به روش توصیفی، تعیین و جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر شاهد اندازه‌گیری شد [۱۴].

۱۴- بتاکاروتن: اندازه گیری در طول موج ۴۵۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت [۱۴].

۲-۲-۲- روش آماری

مدل آماری مورد استفاده، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی بود. تیمارها عبارت از زمان برداشت عسل در دو سطح (بهار و پاییز) و محل‌های برداشت عسل در سه سطح (شهرستان-های کاشمر، نیشابور و شیروان) بودند. آزمایشات در ۳ تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از نرم افزار Mini Tab انجام گرفت.

۳- نتایج و بحث

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد تاثیر زمان برداشت عسل بر خواص فیزیکی آن معنی‌دار ($P < 0.01$) و میانگین داده‌ها در جدول ۱ مقایسه شده‌اند ولی تاثیر محل برداشت عسل بر خواص فیزیکی نمونه‌ها بی‌معنی بود.

نتایج تاثیر زمان بر ویژگی‌های رنگ، رطوبت و بریکس نمونه‌های عسل به دست آمده در دو فصل پاییز و بهار نشان داد که رنگ نمونه‌های عسل به صورت معنی‌داری در فصل پاییز بیشتر از

2. Hygroscopic

1. Sulfite Polymyxin Sulfadiazine Agar

Table 1 Comparison of the effect of honey harvest time on the mean of physical properties of honey

Season	Color	Humidity (%)	Brix (%)
Autumn	0.025±0.0001 ^a	15.088 ±0.0003 ^b	83.333±0.001 ^a
Spring	0.005±0.0004 ^b	16.688±0.0009 ^a	81.361±0.005 ^b

Similar letters in each column have no significant difference (Duncan test $p < 0.01$)

از آنجا که در فصل بهار، میزان نزولات آسمانی بیشتر از فصول تابستان و پاییز است بنابراین عسل برداشت شده در فصل بهار همیشه میزان رطوبت بیشتر از عسل پاییزه دارد. در پژوهش حاضر، بیشترین میزان رطوبت مربوط به نمونه‌های عسل برداشت شده در فصل بهار بود و تاییدی بر قانون موجود و پژوهش‌های انجام شده است [۱۷].

درصد مواد جامد محلول یا درجه بریکس تحت تاثیر عوامل مختلف نظیر نوع گل، موقعیت جغرافیایی و زمان رسیدگی [۲۱]. همچنین در ارتباط با میزان رطوبت نمونه عسل می‌باشد. هر چه رطوبت عسل بیشتر باشد درصد مواد جامد محلول آن کمتر است. با مشاهده جدول ۲، درصد مواد جامد محلول نمونه‌های

عسل در فصل پاییز به صورت معنی‌داری ($P < 0.01$) از فصل بهار بیشتر است که تاییدی بر گفته‌های پیشین است. نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها، نشان داد که اثر منطقه و فصل برداشت عسل بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل کاملاً معنی‌دار بودند ($P < 0.01$). تاثیر زمان برداشت عسل بر مقادیر بتاکاروتن و پلی‌فنل‌های موجود در عسل معنی‌دار بود. پژوهش‌های انجام شده در این زمینه نشان داده است که مقادیر بتاکاروتن و ترکیبات فنلی موجود در یک محصول از جمله عسل بر میزان و قدرت آنتی‌اکسیدانی محصول تاثیر مستقیم دارد. بنابراین با اندازه‌گیری مقادیر بتاکاروتن و پلی‌فنل‌های نمونه‌های عسل در زمان‌ها و مکان‌های مختلف می‌توان قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل را برآورد کرد.

Table 2 Comparison of the effect of honey harvest time on the mean of antioxidant activity, beta carotene and phenolic compounds of honey

Season	Antioxidant activity (%)	Beta carotene (mg/kg)	Phenolic Compounds (mg/kg)
Autumn	35.532 ^b	0.667 ^a	0.033 ^b
Spring	61.185 ^a	0.275 ^b	0.067 ^a

Similar letters in each column have no significant difference (Duncan test $p < 0.01$)

نتایج به دست آمده در جدول شماره ۲ نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی موجود در نمونه‌های برداشت شده در فصل بهار (عسل بهاره) به صورت معنی‌داری از نمونه‌های عسل پاییزه بیشتر بود. اسیدهای فنلی، گروه مهمی از ترکیبات موثر بر خواص ظاهری و عملکردی عسل می‌باشند که دارای خواص تغذیه‌ای و درمانی نیز هستند. غلظت و نوع ترکیبات فنلی موجود در عسل‌ها متغیر هستند [۲۲]. ولی این ترکیبات به شدت تحت تاثیر نوع گل، منشا جغرافیایی و ویژگی‌های آب و هوایی محل تولید می‌باشند [۲۳]. تعیین مقدار ترکیبات فنلی موجود در عسل یک پارامتر خوب برای ارزیابی کیفیت و پتانسیل درمانی آن می‌باشد. از آنجا که تعداد و تنوع گلها در فصل بهار از تابستان بیشتر است در نتیجه مقادیر ترکیبات فنلی در عسل بهاره به مراتب بیشتر از عسل پاییز می‌باشد. نتایج گرفته شده تاییدی بر این موضوع است.

نتایج موجود در جدول ۲ نشان داد مقدار ترکیبات بتاکاروتن اندازه‌گیری شده در نمونه‌های عسل برداشت شده در پاییز به صورت معنی‌داری از عسل‌های بهاره بیشتر بود. به نظر می‌رسد نوع گل و شرایط آب و هوایی و جغرافیایی در این زمینه نقش موثر دارند. ثابت شده این ترکیبات دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند. ولی در این زمینه در مقایسه با ترکیبات فنلی از شدت کمتر برخوردارند.

در این پژوهش فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل با استفاده از روش ۱ و ۱ دی فنیل ۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل‌های طبیعی در اثر حضور بسیاری از مواد مختلف مانند آنزیم‌ها، محصولات واکنش مایلارد، اسیدهای آلی، اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، اسیدهای آمینه و اسید آسکوربیک است [۳]. تفاوت در فعالیت

می‌کنند. بنابراین ممکن است نقش مهمی در کنترل واکنش‌های اکسیداتیو در بدن انسان ایفا کنند [۲۴]. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عسل نیز مانند سایر خصوصیات به منابع گل و همچنین به روش فراوری عسل بستگی دارد [۲۵].

آنتی‌اکسیدانی بین انواع عسل به علت تفاوت مقدار آنتی‌اکسیدان-های عسل به خصوص میزان ترکیبات فنلی می‌باشد و به شدت بستگی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل متصل به حلقه بنزن این ترکیبات است. پلی‌فنل‌ها در گیاهان به علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی و عوامل حفاظتی در برابر آسیب‌های مختلف عمل

Table 3 Comparison of the effect of honey harvesting area on the mean of antioxidant activity, beta carotene and phenolic compounds of honey

Area	Antioxidant activity (%)	Beta carotene (mg/kg)	Phenolic Compounds (mg/kg)
Kashmar	54.3 ^a	0.526 ^a	0.047 ^b
Neyshabour	45.91 ^b	0.483 ^a	0.052 ^a
Shirvan	44.86 ^b	0.403 ^a	0.050 ^{ab}

Similar letters in each column have no significant difference (Duncan test $p < 0.01$)

می‌باشد. با توجه به تعداد کل نمونه‌های برداشت شده، ذکر این نکته ضروری است که تعداد نمونه برای تفسیر این نتایج کم بوده و برای بالا بردن درجه اطمینان نتایج، نیاز به تعداد بیشتری نمونه می‌باشیم.

جدول شماره ۴ نشان می‌دهد که از بین نمونه‌های برداشت شده از شهرهای کاشمر و نیشابور، ۶۶ درصد نمونه‌ها دارای اثر ضد-میکروبی بودند همچنین در بین نمونه‌های مربوط به منطقه شیروان، ۸۳ درصد نمونه‌ها، دارای اثر ضد میکروبی بودند. جدول شماره ۵ نشان می‌دهد که تمام نمونه‌های به دست آمده در فصل بهار، دارای اثر ضد میکروبی بوده ولی در بین نمونه‌های برداشت شده در فصل پاییز فقط ۴۴ درصد دارای این اثر بودند. این جدول نشان می‌دهد که اثر ضد میکروبی تنها به دلیل غلظت مواد قندی و اثر اسموتیک بر روی میکروارگانیسم‌ها نمی‌باشد. بلکه با توجه به وجود تفاوت زیاد در نمونه‌های فصل بهار و پاییز احتمالاً وجود مقادیر مختلف ترکیبات موادموثره در ایجاد و افزایش اثر ضد میکروبی تاثیر به‌سزایی داشته است.

نتایج موجود در جدول شماره ۳ نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی موجود در نمونه‌های برداشت شده از شهرستان نیشابور به صورت معنی‌داری از نمونه‌های عسل کاشمر بیشتر بود. ولی اختلاف معنی‌داری با نمونه عسل شیروان نداشت. عسل شیروان نیز اختلاف معنی‌دار با عسل کاشمر نداشت. همانطور که قبلاً ذکر شد نوع گل و شرایط آب و هوایی و جغرافیایی بر میزان ترکیبات فنلی عسل تاثیر مستقیم دارد.

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه عسل کاشمر به صورت معنی‌داری از دو شهر دیگر بیشتر است. از آنجا که ترکیبات فنلی تاثیر مستقیم بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارند، بالا بودن قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه عسل کاشمر نشان داد که ترکیبات موثره دیگری علاوه بر فنلها وجود داشته که باعث بالا رفتن قدرت آنتی‌اکسیدانی عسل کاشمر نسبت به سایر شهرستان‌ها شده است.

جدول ۴ نشان‌دهنده فراوانی نمونه‌های دارای اثر ضد میکروبی برداشت شده از مناطق مختلف می‌باشد. جدول شماره ۵ مربوط به فراوانی نمونه‌های دارای اثر ضد میکروبی در فصول تولید عسل

Table 4 Frequency of antimicrobial samples in each honey production area

Area	Total	Frequency	Relative Frequency	Relative FrequencyPercentage	Relative FrequencyPercentage to Total
Kashmar	6	4	0.66	66.66	22.22
Neyshabour	6	4	0.66	66.66	22.22
Shirvan	6	5	0.83	83.33	27.78

Table 5 Frequency of antimicrobial samples in each honey production season

Season	Total	Frequency	Relative Frequency	Relative Frequency Percentage	Relative Frequency Percentage to Total
Autumn	9	4	0.44	44.44	22.22
Spring	9	9	1	100	50

عسل‌های چند منطقه مختلف، مربوط به اختلاف در مقدار پراکسید هیدروژن، فیتوکمیکال‌های (مواد موثره گیاهی) موجود در محل، نوع پوشش گیاهی و گلی موجود در مناطق مورد مطالعه برای پرورش زنبور عسل و تولید عسل توسط آنها دارد [۲۹]. اختلاف در فعالیت آنتی باکتریایی عسل‌های چند منطقه ممکن است مربوط به اختلاف در گونه‌های زنبور باشد [۳۰]. اختلاف در فعالیت آنتی باکتری عسل‌های مختلف که دارای رنگ‌های متفاوت هستند، می‌تواند در ارتباط با اختلاف در مقادیر ترکیبات فنلی عسل‌ها باشد که به میزان زیاد در ارتباط با قدرت آنتی اکسیدانی باکتریها است [۳۱ و ۳۲]. نتایج حاصل از اندازه گیری اسپورکلستریدیوم‌های احیاکننده سولفیت در این پروژه منفی بود که نشان داد، عسل‌های به دست آمده از شهرستان‌های مورد بررسی و در هر دو فصل برداشت فاقد باکتری‌های بی-هوازی احیاءکننده سولفیت بودند. وجود کلستریدیوم‌های احیاءکننده سولفیت در تمام نمونه‌ها منفی بود که نشان‌دهنده مدیریت بهداشتی صحیح در فراوری عسل در این شهرها و بیانگر کیفیت مناسب میکروبی نمونه‌های عسل بود. نتایج این تحقیق با گزارشات گومز و همکاران در سال ۲۰۱۰ مشابه بود [۱۹].

۴- نتیجه گیری

عسل، ترکیبی است که زنبور عسل آن را از شهد گلها برداشت و پس از فراوری و اضافه کردن آنزیم‌های مختلف از بدن خود به آن و تبخیر رطوبت اضافی، توسط زنبور عسل در سلول‌های کندو ذخیره می‌شود.

نتایج نشان دادند که نمونه‌های عسل بهاره نسبت به عسل‌های برداشت شده در فصل پاییز از رطوبت بیشتر (۱۶/۶ درصد)، درصد مواد جامد پایین‌تر (۸۱/۳۶ درصد) و شدت رنگ کمتر (۰/۰۰۵ درصد) برخوردار بودند همچنین عسل‌های بهاره دارای ترکیبات فنلی بیشتر (۰/۰۶۷ میلی گرم در کیلوگرم) و بالطبع

مقایسه هم زمان دو جدول ۴ و ۵ نشان می‌دهد که علت فراوانی بیشتر حاصل از نمونه منطقه شیروان، وجود اثر ضد میکروبی بیشتر در نمونه‌های حاصل از فصل بهار در این منطقه می‌باشد. این بدین مفهوم است که نمونه مورد نظر بیشترین تغذیه را از گل داشته است.

در آزمون اندازه‌گیری قدرت آنتی باکتریایی عسل، روی میکروارگانیزم‌های گرم مثبت و گرم منفی (در این پروژه به ترتیب باسیلوس سوبتیلیس و اشرشیاکلی) آزمایش انجام شد. در نتیجه وجود آنزیم‌های کاتالاز و اکسیداز که اکسید کننده‌های قوی هستند و همچنین وجود ترکیبات فنلی، فلاوونوئیدی و ... این خاصیت ضد میکروبی در عسل ایجاد می‌شود. هر چه مقادیر ترکیبات ذکر شده در عسل کمتر باشد خاصیت ضد باکتریایی عسل کمتر است. اگر اندیس آنتی باکتریایی عسل منفی باشد یعنی روی میکروارگانیزم‌های گرم مثبت و گرم منفی بی‌تاثیر است.

در این پژوهش، اختلاف در قدرت ضد باکتری عسل‌های مناطق مختلف مشاهده شد که به میزان زیاد مربوط به اختلاف در مقدار پراکسید هیدروژن موجود در هر منطقه است که تاثیر مستقیم روی قدرت آنتی باکتری عسل به دست آمده در آن محل دارد. این موضوع مشابه با تحقیق انجام شده توسط مولان (۱۹۹۲) است که اختلاف موجود در قدرت آنتی باکتری انواع مختلف عسل را بررسی کرد [۴]. اختلاف در قدرت آنتی باکتریایی عسل بستگی به محل رویش گل یا گیاه، نوع گیاه و یا گل، نوع شهد و گرده‌ها دارد. همچنین عوامل ذکر شده روی طعم، رنگ، بو و ترکیب شیمیایی عسل اثر دارند [۲۶].

در تحقیق موجود نوع گل و گیاهان موجود در مناطق تولیدی عسل، تفاوت داشتند که بر روی کیفیت شهد گل و در نهایت عسل حاصل، تاثیر داشت. که این موضوع موافق با مطالعات آلن^۱ در سال‌های ۱۹۹۱ و ۱۹۹۲ بود [۲۷ و ۲۸]. احمد و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند اختلافات موجود در قدرت آنتی باکتریایی

1. Allen

- [5] Molan, P. 1992b. The antibacterial activity of honey. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee World*, 73:59-76.
- [6] Iglesias, A., Feás, X., Rodrigues, S., Seijas, J. A., Vázquez-Tato, M. P., Dias, L. G., Estevinho, L. M. 2012. Comprehensive study of honey with protected denomination of origin and contribution to the enhancement of legal specifications. *Molecules* 17: 8561–8577.
- [7] Clement, H., Bruneau, E., Barbancon, J. M., Bonnaaffe, J., Reeb, C., Veissiere, B. 2002. Le traite rustica de l'apiculture. *Traite Rustica*, 528.
- [8] Krishna, D. G., AL-Hasani, H. H., Al-Skhhouri, Z. S., AL-Rahbi, M. M., Kethani Devi, Ch. 2015. Physico-Chemical investigation and analysis of biochemical composition of natural and industrial honey samples. *International Journal of Organic and Bioorganic Chemistry*; 5(1): 9-12.
- [9] Sorkun, K., Dogan, C., Basoglu, N. 2001. Physicochemical characteristics and composition of eucalyptus camal dulensis dehnh honey produced in Turkey. *Apiacta* 4.
- [10] Blouch, A., Mahmood, R., Rafique, K., Asif Shaheen, F., Munir, M., Qayyum, 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.
- [11] Singleton, V. L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R. M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.*, 299: 152–178.
- [12] Finola, M. S., Lasagno, M. C., Marioli, J. M. 2007. Microbiological and chemical characterization of honey from central Argentina. *Food Chemistry*. 100:1649-1653.
- [13] White, J. W. 1984. Instrumental color classification of honey: Collaborative study. *Journal of the AOAC*, 67: 1129–1131.
- [14] Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M., Estevinho, L. M. 2009. Antioxidant activity of Portuguese honey samples: different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114 (4): 1438–1443.
- [15] Cooper, R., Molan, P., Harding, K. 1999. Antibacterial activity of honey against strains

قدرت آنتی اکسیدانی بالاتر (۶۱/۱۸۵۶) و خاصیت ضد میکروبی بیشتر (۱۰۰ درصد) نسبت به نمونه‌های عسل پاییزه، بودند.

در بین نمونه‌های عسل برداشت شده از مناطق مختلف استان خراسان، نمونه‌های عسل شهرستان کاشمر دارای بیشترین قدرت آنتی اکسیدانی (۵۴/۳) بود. عسل دارای انواع آنتی اکسیدانهای آنزیمی و غیر آنزیمی نظیر گلوکز اکسیداز، کاتالاز، ال-آسکوربیک اسید، فلاونوئیدها، اسیدهای آلی و آمینواسیدها می باشد.

بالاترین میزان ترکیبات فنلی اندازه گیری شده، از شهرستان نیشابور گزارش شد (۰/۰۵۲ میلی گرم در کیلوگرم). نتیجه‌ای که می توان در این قسمت گرفت این است که علاوه بر ترکیبات فنلی، عوامل دیگری وجود دارند که بر قدرت آنتی اکسیدانی عسل موثر هستند. اثر ضد میکروبی نمونه‌های عسل شیروان نسبت به دو منطقه دیگر بیشتر بود (فراوانی ۸۳/۳۳ درصد) که عوامل زیادی در بروز این قدرت از جمله نوع پوشش گلی و گیاهی و ترکیبات موثره (ترکیبات فنلی) موجود در آنها و شرایط آب و هوایی موجود، دخالت دارند.

با تعیین اسپورکلستریدیوم‌های احیا کننده سولفیت در نمونه ها، مشخص شد که تمام عسل‌ها فاقد باکتری‌های بی‌هوازی احیاء کننده سولفیت بودند که این امر نشان دهنده رعایت بهداشت و کیفیت بالای میکروبی نمونه‌ها بود.

۵- منابع

- [1] Standard Scientific Institute. 1392. Honey - Properties and Test Methods, No. 92. National Iranian Standards Organization. Seventh revision (in Persian).
- [2] Guo, W., Liu, Y., Zhu, X., Wang, S. 2011. Temperature-dependent dielectric properties of honey associated with dielectric heating. *Journal of Food Engineering*, 102(3): 209-216.
- [3] Zuhair, H. S., Mohd, Y. K., Makpol, S., Mohd, Y. A. 2011. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Molecules*. 16: 6378-6395.
- [4] Molan, P. 1992a. The antibacterial activity of honey. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*, 73:5-28.

- Battino. 2010. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds, *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2490-2499.
- [25] Pichichero, E., L. Canuti, and A. Canini. 2009. Characterisation of the phenolic and flavonoid fractions and antioxidant power of Italian honeys of different botanical origin, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 609-616.
- [26] Taormina, P. J., Niemira, B. A., Beuchat, L. R. 2001. Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int J Food Microbiol*. 69:217-225.
- [27] Allen, K., Molan, P., Reid, G. 1991a. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. *J. Pharm. Pharmacol*, 43(12): 817-822.
- [28] Allen, K., Molan, P., Reid, G. 1991b. The Variability of the antibacterial activity of honey. *Apiacta*, 26: 114-121.
- [29] Ahmed, M., Sahile, S., Subramanian, C. 2014. Evaluation of antibacterial potentials of honey against some common human pathogens in north Gondar zone of Ethiopia. *International Journal of Pure and Applied Zoology*, 2 (4): 286-295.
- [30] Mogessie, A. 1994. The in vitro antibacterial activity of 'Tazma mar' honey produced by stingless bee. *Ethiop J Health Dev*. 8 (2): 109-117.
- [31] Kek, P. S., Chin, L. N., Yusof, A. Y., Tan, W. S., Chua, S. L. 2014. Total phenolic contents and color intensity of Malaysian honeys from the *Apis* spp. and *Trigona* spp. bees. *Agric Agric Sci Proc*. 2: 150-155.
- [32] Bertonec, J., Dobersek, U., Jamnik, M., Golob, T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian Honey. *Food Chem*. 105: 822-828.
- of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 92: 283-285
- [16] Error! Hyperlink reference not valid.. 2017-03-30.
- [17] Jalilian, H. R., Beik nejad, D., Chaichi, M. J. 1392. Evaluation on physicochemical properties of honey samples of Golestan province. *Journal of innovation in food science and technology*, Year 6 - second Issue: 65-74.
- [18] Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. M. Zaldivar-Cruz, V. Kuri, J. FernándezLópez, Á. A. Carbonell-Barrachina, and J. Pérez-Álvarez, (2010), Aroma profile and physicochemical properties of artisanal honey from Tabasco, Mexico, *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 1111-1118.
- [19] Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L. L., Rodrigues, P., Estevinho, L. 2010. Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2): 544-548.
- [20] Nanda, V., B. Sarkar, H. Sharma, and A. Bawa, 2003, Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India, *Journal of Food Composition and Analysis*, 16, 613-619.
- [21] Ram, A. K. 2011. Production of Spray-dried Honey Powder and Its Application in Bread, Agricultural and Mechanical College, Louisiana State University: 1-83.
- Saxena, S., Gautam, S., Sharma, A. 2010. Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food chemistry*, 118(2): 391-397.
- [23] Escuredo, O., L. R. Silva, P. Valentão, M. C. Seijo, and P. B. Andrade. 2012. Assessing *Rubus* honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity, *Food Chemistry*, 130: 671-678.
- [24] Alvarez-Suarez, J. M., S. Tulipani, D. Díaz, Y. Estevez, S. Romandini, F. Giampieri, E. Damiani, P. Astolfi, S. Bompadre, and M.

Antioxidant, physicochemical and antimicrobial properties of honey in two seasons from different regions in Khorasan province

Basiri, Sh.^{1*}, Gheybi, F.¹, Basiri, N.²

1. Assistant Professor, Agricultural Engineering Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Mashhad, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Laboratory Sciences, Zahedan Branch, Islamic Azad University, Zahedan, Iran.

(Received: 2018/09/25 Accepted: 2019/12/29)

Honey is a useful food substance that has an important role in human diet. Honey has many nutritional and medicinal properties. The purpose of this research is to determine the effect of honey production area and its harvest time on the physicochemical and antioxidant properties of natural honey. Honey samples were collected from three areas of Shirvan, Kashmar and Neyshabour in Khorasan Province in two different seasons, spring and autumn. The honey was completely pure and was made from natural flowers in the region. In this research, some physicochemical, antioxidant and microbial properties of honey samples were evaluated. The results showed that spring honey samples with a moisture content (16.6%) and brix (81.36%) had the highest and lowest moisture content and Brix degree respectively than the samples harvested in the fall. Also, spring honey with a color intensity of 0.005%, had a brighter color than the autumn samples. Also, spring honey had more phenolic compounds (0.067 mg/kg honey) and higher antioxidant and antibacterial properties (respectively 61.1856, 100%) than the fall samples. Among honey samples, Kashmar honey had the highest antioxidant capacity (54.3) and honey Neyshabour had the highest amount of phenolic compounds (0.052 mg/kg). Antimicrobial effect of Shirvan honey samples was the highest (83.33%). All honey samples did not contain sulfite reducing bacteria that indicated correct hygienic management in honey processing and showed good microbial quality of honey samples. All of the honey samples did not contain sulfite reducing bacteria, which show proper hygienic management in honey processing and appropriate microbial quality of honey samples.

Key words: Antioxidant properties, Physicochemical, Microbial, Natural Honey.

* Corresponding Author E-Mail Address: shbasiri35@yahoo.com