**بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی عسل های با منشاء گیاهی مختلف در استان البرز**

زینب رفتنی امیری1[[1]](#footnote-2)\*، سبا بلقیسی2

1- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی،دانشکده مهندسی زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

2- مربی گروه پژوهشی موادغذایی، پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران

**(تاریخ دریافت: 26/06/ 97 تاریخ پذیرش: 27/09/97)**

**چکیده**

تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی استاندارد در محصولات غذایی حائز اهمیت است. از آنجائی­که ترکیب شیمیایی عسل با توجه به منشاء آن متفاوت است، ضروری است ویژگی‌های آن مطابق با این عوامل بطور دوره‌ای بررسی و تجدید نظر شوند. در این مطالعه، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ویژگی‌های میکروبی 30 نمونه عسل از منابع گیاهی مختلف (گون، کنار، آویشن، بهارنارنج و چهل گیاه) مورد ارزیابی قرار گرفتند و با ویژگی‌های تعریف شده در استاندارد بین المللی کدکس مقایسه شدند. نتایج نشان داد که میزان رطوبت عسل بهارنارنج نسبت به سایر گونه‌های گیاهی بالاتر بوده است و با حد مجاز استاندارد بین‌المللی کدکس (بیشینه 20%) مطابقت نداشته است. هم­چنینمیزان ساکارز در نمونه‌های عسل گون، کنار، آویشن و چهل گیاه بالاتر از حد مجاز استاندارد بین‌المللی کدکس (بیشینه 5%) بود. میزان هیدروکسی‌متیل‌فورفورال در تمام نمونه‌ها به استثناء عسل بهار نارنج از حد مجاز (بیشینه mg/kg40) بالاتر بودهاست. دیاستاز در نمونه‌های عسل گون، کنار، آویشن و چهل گیاه کمتر از حد استاندارد (کمینه G08) بود. پرولین در تمام نمونه‌ها به استثناء گون و کنار در محدوده مجاز استاندارد بین‌المللی کدکس (کمینهmg/kg180) قرار داشت. میزان آلودگی میکروبی نمونه‌های عسل وابسته به منشأ گیاهی نبوده و اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها مشاهده نشد (p>0.05). با توجه به نتایج به­دست آمده پیشنهاد می‌شود استانداردهای موجود در زمینه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عسل با توجه به منشأگیاهی آن مورد بازنگری و بررسی قرار گرفته و در تعیین حدود قابل قبول هر ویژگی،منشأ گیاهی مد نظر قرار گیرد.

**کلید واژگان:**عسل، منشأگیاهی، فیزیکوشیمیایی، میکروبی، البرز

**1- مقدمه**

عسل از جمله فرآورده­های اقتصادی مهم زنبور عسل (*Apismellifera*) است که به عنوان یک ماده شیمیایی طبیعی از گیاهان تولید می‌شود [1]. براساس تعریف کدکس، عسل عبارت است از ماده شیرین طبیعی تولید شده توسط زنبورهای عسل از شهد گل‌ها یا از ترشحات بخش‌های زنده گیاهان یا مواد دفعی ناشی از مکیدن بخش زنده گیاهان به وسیله حشرات که زنبور عسل این مواد را جمع آوری و حمل نموده و با مواد خاصی از بدن خود ترکیب کرده و در شان‌های عسل ذخیره می‌کند تا عمل آوری شده و برسد [2]. عسل یک محصول شیرین و طعم‌دار است که به­عنوان ماده غذایی با ارزش تغذیه‌ای بالا مصرف می‌شود و حاوی بیش از 180 ترکیب سازنده شامل قندها، اسیدهای آمینه، آنزیم‌ها، پروتئین، ویتامین، مواد معدنی، خاکستر، اسید‌های آلی، ترکیبات معدنی و آنتی­اکسیدان‌هااست. بنابراین دارای مزایای تغذیه­ای و درمانی است [3]. کشورهای چین، آرژانتین و مکزیک بزرگترین تولیدکنندگان عسل در جهان هستند و بیش از یک چهارم عسل تولیدی جهان در کشور چین تولید می‌شود. سهم تولید عسل ایران نسبت به کل جهان 2/2 درصد است. ایران با تولید سالانه 4/81 هزار تن عسل رتبه هفتم جهان را به خود اختصاص داده است که 80 درصد عسل تولیدی آن در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی، اردبیل، فارس و گیلان می‌باشد [4]. کیفیت عسل اساساً به واسطه ویژگی­های فیزیکوشیمیایی و میکروبی تعیین می‌گردد و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عسل در استانداردهای ملی و بین­المللی مشخص شده است. رسیدن عسل، فصل برداشت، روش تولید و فرآوری، شرایط اقلیمی، مدت زمان ذخیره سازی و مکان نگه داری و منبع شهد ( تک گل و یا چند گل) تاثیر مهمی بر کیفیت، ترکیب و ویژگی‌های بیوشیمیایی عسل دارد، به همین دلیل عسل ها با توجه به فاکتورهای مذکور می‌توانند خصوصیات فیزیکوشیمیایی متفاوتی داشته باشند [5]. ویژگی‌های اصلی عسل؛رطوبت، هدایت الکتریکی، خاکستر، قندهای احیا کننده و غیر احیا کننده، اسیدیته، فعالیت دیاستازی، مقدار هیدروکسی متیل فورفورال و پرولین است. به عبارت دیگر استانداردهای عسل از نظر آلودگی میکروبی و بهداشتی این محصول کمبود دارد. در حقیقت، مطالعات زیادی بر روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عسل گزارش شده است اما مطالعات مربوط به آلودگی میکروبی کم هستند. عسل چندین منبع آلودگی میکروبی دارد. اولین منبع گرده است سپس اجزاء قابل هضم زنبور عسل، هوا، خاک، گرد و غبار که اغلب به سختی جذب می‌گردند. منبع دوم ناشی از جابه‌جایی و فرآوری است که به سهولت قابل کنترل است. آلوده کننده‌های اصلی میکروبی کپک­ها، مخمرها وباکتری گونه کلستریدیوم است که نشانگر ایمنی و کیفیت عسل است [6]. در عسل بیش از 22 قند شناسایی شده که در آن، فروکتوز و گلوکز قندهای اصلی می‌باشند. به هر حال نسبت فروکتوز به گلوکز مرتبط با کیفیت و توانایی عسل به کریستالیزاسیون است.مقدار رطوبت عسل عامل اصلی پایداری آن در برابر تخمیر و گرانوله شدن است. مقدار رطوبت پائین، عسل را از فساد میکروبی حفظ می­کند و برای مدت طولانی­تر قابل نگهداری است. خاکستر نشاندهنده میزان مواد معدنی در عسل است و میزان مواد معدنی در عسل بسته به نوع گیاه و نوع خاک متغیر است. محتوای خاکستر به منشاء گل و میزان گرده گل جمع آوری شده مرتبط است و پایین بودن مقدار آن نشانه طبیعی بودن منشاء عسل است و عسل های شهد معمولا میزان خاکستر کمتری دارند. عوامل مختلفی در میزان اسیدیته عسل دخیل است. اسیدیته آزاد در عسل به علت وجود اسیدهای آلی مانند اسید سیتریک، اسید گلوکونیک، اسید استیک، اسید لاکتیک و اسید بوتیریک است. فراوانترین اسید موجود در عسل اسید گلوکونیک است که از تجزیه آنزیمی گلوکز توسط گلوکزاکسیداز به دست می آید. گلوکز اکسیداز آنزیمی است که علاوه بر دیاستاز به طور طبیعی در عسل وجود دارد [7]. آنزیم دیاستاز نشانه تازه‌گی و طبیعی بودن عسل است. پرولین، از اسید آمینه های اختصاصی ساخته شده توسط زنبور برای تامین انرژی پرواز می‌باشد و لذا پراکندگی گیاهان و همچنین فعالیت و از طرفی نوع زنبور در میزان این آمینواسید بسیار موثرمی باشد. هیدروکسی متیل فورفورال که از آبگیری قند فروکتوز به دست می آید نشانه تقلبی بودن و یا حرارت دیدن عسل است و لذا به عنوان شاخص تازه‌گی و طبیعی بودن عسل نیز بررسی می‌گردد [7].

تعیین ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی استاندارد در محصولات غذایی حائز اهمیت است چرا که مصرف، کیفیت و اعتبار چنین محصولاتی به آن وابسته است. هم­چنین ماده غذایی خالص و عاری از آلودگی ازنقطه نظر سلامتی برای مصرف کننده مهم می‌باشد. از آنجائی­که ترکیب شیمیایی انواع عسل از یک منطقه جغرافیایی به منطقه دیگر متفاوت است و هم­چنین در نواحی مختلف در یک کشور به دلیل منشأ گیاهی، ترکیب خاک و عوامل دیگر شاخص‌های کیفی عسل متغیر است، ضروری است ویژگی‌های آن مطابق با این عوامل بطور دوره‌ای تجدید نظر شوند. به ویژه آن­که، انواع زیادی عسل در ایران مصرف می‌شوند که اغلب، چنین عسل‌هایی فاقد نشان کیفیت هستند و این منجر به آن شده که عسل، تقبلی و یا غیراستاندارد باشد. بنابراین، مقایسه چنین عسل‌هایی با استانداردهای کیفی به شدت مورد نیاز است هم­چنین برخی گزارشات اولیه نشان داده است که میزان ساکارز در عسل‌های تجاری ایران از حد مجاز تعیین شده در استاندارد‌ها تجاوز یافته است که می‌توان آن را به تفاوت در منشأ گیاهی و منطقه جغرافیایی نیز نسبت داد.شرایط آب و هوایی حاکم بر کشور ایران سبب تولید عسل‌های متنوعیبه لحاظ ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی شده است. در برخی از پژوهش‌های صورت گرفته، خصوصیات فیزیکوشیمیایی عسل های تولید شده در برخی از نقاط کشور مورد بررسی قرار گرفته‌اند. برای مثال، در بررسی بر روی 60 نمونه عسل زنبورستان های شهرستان گرمسار استان سمنان میانگین درصد رطوبت، مواد جامد، وزن مخصوص، خاکستر، pHو اسیدیته نمونه های عسل به ترتیب 33/16%، 68/83%، 323/1، 28/0%، 54/4، 33/16 میلی اکی والان در کیلوگرم گزارش شده است [8]. همچنین، کیفیت و تقلبات موجود در عسل های عرضه شده در شهرستان شیراز در فصول مختلف سال بررسی شده اند و پس از آنالیز آماری مشخص شد که در فصل های بهار، تابستان، پاییز و زمستان به ترتیب در 25/0%، 5/37%، 7/16% و 83/45% از نمونه های عسل و در مجموع 25/31% از کل عسل ها تقلب صورت گرفته است [9]. در مطالعه ای دیگر، خصوصیات فیزیکوشیمیایی 4 نمونه از عسل‌های طبیعی استان گلستان با منشاء گل‌های مختلف شامل دو نمونه عسل تک گل (آفتابگردان و عشقه) و دو نمونه عسل چند گل (جنگل و کوهستان) با یک نمونه عسل شکری و یک نمونه عسل تقلبی مورد مقایسه قرار گرفت. مقادیر به دست آمده مربوط به خصوصیات فیزیکوشیمیایی در تمام نمونه‌ها با هم متفاوت بود و درصد ساکارز و نسبت فروکتوز به گلوکز، pH، هیدروکسی متیل فورفورال و فعالیت دیاستازی عسل تقلبی با مقادیر تعیین شده در استاندارد عسل مطابقت نداشتند [10].

 در این مطالعه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی (رطوبت، اسیدیته، pH، مواد جامد محلول، فعالیت دیاستازی، هدایت الکتریکی، خاکستر، قندهای احیاکننده قبل و بعد از هیدرولیز، نسبت فروکتوز به گلوکز، ساکارز، پرولین و هیدروکسی متیل فورفورال) و ویژگی‌های میکروبی (کپک، مخمر و کلستریدیوم احیاء کننده سولفیت) 30 نمونه عسل با منشأ گیاهی متفاوت (گون، کنار، آویشن، بهارنارنج و چهل گیاه) بررسی و با استاندارد کدکس مقایسه شدند تا بتوان از این جهت عسل های مختلف را طبقه بندی و ویژگی‌های هر عسل را به طور کامل مشخص نمود.

**2- مواد و روش­ها**

**2-1- مواد**

**2-1-1-نمونه­ها**

 در این مطالعه 30 نمونه عسلبا منابع گیاهی متفاوت (24 نمونه تک گل و 6 نمونه چند گل) تولید شده توسط زنبورعسل نژاد کارنیکا، با همکاری معاونت امور دامی وزارت جهاد کشاورزی طی سال های 1395 تا 1396 از استان البرزجمع­آوری شدند. به این منظور ابتدا آمار زنبورداران از سازمان جهاد کشاورزی استان البرز اخذ و تعداد 10 زنبوردار انتخاب شدند. سپس با استفاده از روش نمونه­گیری تصادفی، نمونه های عسل از کندوها برداشت شدند و در بطری‌های شیشه‌ای (500 گرمی) بسته­بندی و در  0C2±18- در تاریکی تا زمان آزمون نگه‌داری شدند.

**2-1-2-معرف‌ها و محلول‌ها**

تمام معرف‌ها و حلال‌ها با درجه خلوص آنالیزی استفاده شدند و استانداردهای آزمایشگاهی از شرکت سیگما تهیه شدند.

**2-2- روش­ها**

**2-2-1-رطوبت**

 با استفاده از دستگاه رفرکتومتر اندازه‌گیری و تمام اندازه‌گیری‌ها در 0C 20 گزارش شد [11].

**2-2-2-مواد جامد محلول (بریکس)**

 با استفاده از دستگاه رفرکتومتر در 0C 20 اندازه گیری شد [11].

**2-2-3-اسیدیته آزاد و pH**

 اسیدیته آزاد با روش تیتراسیون تعیین شد به این ترتیب که 10 گرم عسل در 75 میلی لیتر آب دیونیزه حل شد و با سود 1/0 نرمال تا رسیدن به 5/8 pH= تیتر شد و pHبا استفاده از pHمتر و تهیه محلول W/V 10% تعیین گردید [11].

**2-2-4-هدایت الکتریکی**

 به کمک دستگاه هدایت­سنج در دمای 0C20 و تهیه محلول W/V20% اندازه­گیری شد و برحسبs/cm μگزارش شدند. هدایت الکتریکی آب مقطر کمتر ازs/cm μ2 خوانده شد (12).

**2-2-5-خاکستر**

 5 گرم عسل به بوته پلاتینی منتقل شد و پس از کربونیزه شدن در کوره الکتریکی 0C50±550 به مدت 5 ساعت قرار گرفت و پس از خنک کردن توزین شد [11].

قندهای احیا کننده، گلوکز، فروکتوز و ساکارز: به روش تیتراسیون با محلول فهلینگ آزمون شدند [11].

**2-2-6-هیدروکسی متیل فورفورال**

 5 گرم نمونه عسل در 25 میلی لیتر آب مقطر حل شد و با عوامل رنگ بر ( cc 5/0کارز І +cc 5/0 کارزІІ ) تیمار شدند و به حجم50 میلی لیتر رسانده شد سپس محلول صاف گردید و 10 میلی لیتر اولیه دور ریخته شد و جذب محلول صاف شده درnm 248 وnm 336 با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در برابر مایع صاف شده تیمار شده با سولفیت هیدروژن سدیم به صورت زیر تعیین شد [11].

هیدروکسی متیل فورفورال در 100 گرم عسل= (جذب 336 – جذب 248) × 97/14 × 5

**2-2-7-فعالیت دیاستازی**

 محلول نشاسته و عسل در حمام آب 0C40 برای زمان مورد نیاز جهت جذب کمتر از 235/0 نانومتر نگه­داری شدند. 1 میلی لیتر از مخلوط در 5 دقیقه متناوب خارج شدند و جذب در nm660 با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. نمودار جذب در مقابل زمان برای محاسبه tx به کار رفت و سپس فعالیت دیاستازی با ضریب tx/300 به دست آمد. فعالیت دیاستازی به صورت 1% نشاسته هیدرولیز شده توسط آنزیم در یک گرم عسل به مدت یک ساعت برحسب واحد گوته بیان شد[11].

**2-2-8-پرولین**

 با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و خواندن جذب محلول پرولین و نین­هیدرین در محیط اسیدی در طول موج 510 نانومتر اندازه گیری شد[12].

**2-2-9-آزمون میکروبی**

10 گرم از هر نمونه عسل در 90 میلی لیتر آب پپتونه همگن شد. شمارش میکروبی به صورت تعداد کلنی تشکیل شده در هر گرم عسل (cfu/gr) بیان شدند. برای شمارش کلستریدیوم احیا کننده سولفیت، 10، 5، 1 و 1/0 سی سی از سوسپانسیون اولیه به یک لوله خالی اضافه شدند و در 0C80 به مدت 5 دقیقه حرارت دیدند و با SPS (سولفیت پلی بیکسین-سولفادیازین) پوشیده شدند و لوله­ها در 0C37 به مدت 5 روز گرمخانه­گذاری شدند [13].

**2-3-تجزیه و تحلیل داده­ها**

 تمام آزمون­ها با سه تکرار و به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شدند. آنالیز واریانس (ANOVA)و آزمون دانکن جهت مقایسه میانگین­ها به کار رفت. تحلیل­های آماری با نرم افزار SPSS16 و سطح معنی­داری 05/0≥ انجام شد.

**3- نتایج**

ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه‌های عسل شامل رطوبت، موادجامد محلول، اسیدیته، pH، هدایت­الکتریکی و خاکستر در جدول 1 ارائه شده است.

**Table 1** Mean comparison of moisture, soluble solids, acidity, pH, electrical conductivity and ash in samples

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Ash(w/w) | Electrical conductivity(ms/cm) | pH | Acidity (meq/kg) | Soluble solids(%) | Moisture(w/w) | Samples |
| 0.6±0.01b | 0.74±0.1b | 6.11±0.008b | 38.47±0.13b | 80.36±0.55b | 16.8±0.48c | *Milkvetch* |
| 0.73±0.02a | 0.84±0.018a | 6.65±0.02a | 39.30±0.45a | 83.14±0.27a | 17.21±0.28bc | *Jujube* |
| 0.47±0.008c | 0.61±0.008c | 5.46±0.035c | 38.04±0.73b | 78.78±0.18c | 16.11±0.16d | *Thymes* |
| 0.19±0.02e | 0.29±0.01e | 3.86±0.007e | 35.89±0.3d | 70.20±0.02d | 25.03±0.75a | *Orange blossom* |
| 0.37±0.04d | 0.5±0.17d | 5.25±0.01d | 37.25±0.19c | 80.21±0.12b | 17.75±0.41b | *Multi flower* |

The values of different letters in each column have a significant difference (p <0.05)

**3-1-رطوبت**

 در مطالعه اخیر مقادیر رطوبت نمونه های عسل(w/w) 16/0±11/16 -75/0±03/25 بود (جدول 1). در نمونه‌های مورد مطالعه میزان رطوبت عسل‌های گون، کنار و چهل‌گیاه اختلاف معنی­دار نداشتند (p>0.05). میزان رطوبت در عسل بهارنارنج نسبت به سایر گونه‌های گیاهی بالاتر بود (75/0±03/25) و با استاندارد بین المللی کدکس (بیشینه 20%) مطابقت نداشته است.

**3-2-مواد جامد محلول**

در مطالعه اخیر مطابق با جدول 1، میزان مواد جامد محلول در دامنه 02/0±20/70 % - 27/0±14/83 قرار داشت. میزان مواد جامد محلول نمونه­های عسل گون و چهل گیاه اختلاف معنی­دار نداشتند (p>0.05). در حالی­که سایر نمونه­ها با یکدیگر اختلاف معنی­دار داشتند (p<0.05). نمونه­های عسل کنار بالاترین مواد جامد محلول و عسل بهارنارنج کمترین مقدار مواد جامد محلول را داشت.

**3-3-اسیدیته و pH**

مقادیر pH و اسیدیته به­ترتیب دامنه‌ای از (meq/kg) 02/0±65/6-007/0±86/3 و (meq/kg) 45/0±30/39- 3/0±89/35 بودند که در محدوده مجاز کمینه 5/3 و بیشینهmeq/kg 50 قرار داشتند [2] (Codex Stan, 2001). میزان pH و اسیدیته در انواع نمونه­های عسل با منشأ گیاهی متفاوت اختلاف معنی داشتند (p<0.05). عسل بهارنارنج کمترین pH و اسیدیته و عسل کنار بالاترین مقدار pH و اسیدیته را داشت.

**3-4-هدایت الکتریکی**

در مطالعه اخیر، میزان هدایت الکتریکی در دامنه (ms/cm) 01/0±29/0- 018/0±84/0 قرار داشت. میزان هدایت الکتریکی در نمونه‌های عسل با منشأ گیاهی متفاوت اختلاف معنی‌دار داشتند (p<0.05). عسل کنار میزان هدایت الکتریکی بالاتر از حد مجاز ( بیشینهms/cm8/0) داشت و سایر نمونه­ها در محدوده قابل قبول قرار داشتند.

**3-5-خاکستر**

در این مطالعه مقادیر خاکستر نمونه‌های عسل 02/0±19/0- 02/0±73/0% می‌باشد (جدول 2) و اختلاف معنی­دار بین خاکستر نمونه‌ها وجود داشت (p<0.05). مقدار خاکستر نمونه‌ها در محدوده استاندارد (mg/100gr2/1-6/0)قرار داشتند.

در جدول 2، میزان قندهای احیاکننده قبل و بعد از هیدرولیز، ساکارز، نسبت فروکتوز به گلوکز نشان داده شده است.

**Table 2**Mean comparison of reducing sugar before and after hydrolysis, sucrose and fructose/glucose in samples

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Fructose/Glucose | Sucrose(w/w) | Reducing sugar after hydrolysis(w/w) | Reducing sugar before hydrolysis(w/w) | Samples |
| 0.88±0.03d | 6.99±0.22b | 64.63±0.44d | 57.27±0.44b | *Milkvetch* |
| 0.81±0.05d | 8.94±0.21a | 61.36±1.14d | 52.26±0.79a | *Jujube* |
| 1.29±0.18b | 5.10±0.14d | 73.73±0.9b | 68.36±0.95d | *Thymes* |
| 1.88±0.16a | 3.37±0.17e | 74.27±0.64a | 70.73±0.79e | *Orange blossom* |
| 1.032±0.12c | 5.8±0.23c | 72.66±1.28c | 66.56±1.52c | *Multi flower* |

The values of different letters in each column have a significant difference (p <0.05)

نتایج جدول 2، نشان می­دهد که تفاوت معنی­داری در میزان قندهای قبل و بعد از هیدرولیز نمونه­های عسل مطالعه شده وجود دارد (p<0.05). میزان قندهای احیا کننده قبل از هیدرولیز دامنه‌ای از 79/0±73/70- 79/0±26/52% و میزان قندهای احیا کننده بعد از هیدرولیز دامنه‌ای از 64/0±27/74- 14/1±36/61% بودند. عسل بهار نارنج بیشترین و عسل کنار کمترین میزان قندهای احیا کننده را داشتند. میزان ساکارز دامنه‌ای از 17/0±37/3- 21/0±94/8 %بود. نشان می­دهد که تفاوت معنی­داری در میزان ساکارز نمونه­های عسل مطالعه شده وجود دارد (p<0.05). میزان ساکارز دامنه‌ای از 17/0±37/3- 21/0±94/8 % بود. عسل بهار نارنج کمترین میزان ساکارز و عسل کنار بالاترین میزان ساکارز را داشتند. میزان ساکارز نمونه‌های عسل گون، کنار، آویشن و چهل گیاه بیش از حد تعین شده در استاندارد کدکس (بیشینه 5%) بود. نسبت فروکتوز به گلوکز در نمونه­های عسل گون و کنار اختلاف معنی‌دار نداشتند(p>0.05) درحالی­که سایر نمونه‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند(p<0.05). نسبت فروکتوز به گلوکز

در نمونه‌های عسل گون و کنار کمتر از حد استاندارد

(کمینه 9/0) بوده است.

در جدول 3 میزان هیدروکسی متیل فورفورال، فعالیت دیاستازی و پرولین در نمونه‌های عسل گزارش شده اند.

**Table 3**Mean comparison of Hydroxymethylfurfuran, Diastase and Proline in samples

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Proline(mg/kg) | Diastase(G0) | Hydroxymethylfurfural (mg/kg) | Samples |
| 150.28±0.78e | 2.65±0.75d | 54.22±9.6a | *Milkvetch* |
| 161.2±0.74d | 2.05±0.92d | 49.66±2.27a | *Jujube* |
| 191±1.39b | 4.9±1.36c | 41.47±3.07a | *Thymes* |
| 224.6±2.48a | 8.32±1.15a | 23.15±1.27c | *Orange blossom* |
| 183.42±0.9c | 6.72±0.7b | 39.45±2.8b | *Multi flower* |

The values of different letters in each column have a significant difference (p <0.05)

**3-6-هیدروکسی متیل فورفورال**

در این مطالعه، مقدار هیدروکسی متیل فورفورال در دامنه (mg/kg) 27/1±15/23 تا(mg/kg) 6/9±22/54 بود. میزان هیدروکسی متیل فورفورال در نمونه‌های گون، کنار و آویشن اختلاف معنی­دار نداشتند (p>0.05) در حالی­که سایر نمونه­ها اختلاف معنی­دار نشان دادند (p<0.05). در تمام نمونه­های عسل به استثناء عسل بهارنارنج مقادیر هیدروکسی متیل فورفورال بالاتر از حد مجاز (بیشینه mg/kg40 ) بود.

**3-7-فعالیت دیاستازی**

فعالیت دیاستازی از(G0)92/0±05/2 تا (G0)15/1±32/8 بود. فعالیت دیاستازی نمونه های گون و کنار اختلاف معنی­دار نداشتند (p>0.05)درحالی­که سایر نمونه­ها اختلاف معنی­دار داشتند (p<0.05). نمونه­های عسل گون،کنار، آویشن و چهل­گیاه میزان فعالیت دیاستازی کمتر از حد استاندارد (کمینهG08) داشتند و فقط نمونه عسل بهارنارنج در محدوده قابل قبول قرار داشت.

**3-8-پرولین**

میزان پرولین در نمونه­های عسل دامنه­ای از(mg/kg) 78/0±28/150 تا 48/2±6/224 بود. میزان پرولین در نمونه­های عسل با منشأ گیاهی متفاوت اختلاف معنی­دار داشتند (p<0.05). نمونه­های عسل به استثناء گون و کنار میزان پرولین در محدوده مجاز ( کمینه mg/kg180) داشتند.

**3-9-آلودگی میکروبی**

میزان آلودگی میکروبی نمونه های عسل در جدول 4 آمده است. میزان کپک ، مخمر در نمونه­های عسل آنالیز شده عموما پایین بوده است و میزان کلستریدیوم احیاء کننده سولفیت در تمام نمونه ها منفی بوده است.

**Table 4**Mean comparison of Mold, Yeast and Sulfite Reducing Clostridium in samples

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Sulfite Reducing Clostridium(cfu/g) | Yeast (cfu/g) | Mould(cfu/g) | Samples |
| Negativea | <10a | 2.2×101±6.7a | *Milkvetch* |
| Negativea | <10a | 2.2×101±2.7a | *Jujube* |
| Negativea | <10a | 1.9×101± 3.8a | *Thymes* |
| Negativea | <10a | 1.3×101±3.6b | *Orange blossom* |
| Negativea | <10a | 2.3×101±5.5a | *Multi flower* |

The values of different letters in each column have a significant difference (p <0.05)

**4-بحث و نتیجه گیری**

رطوبت عسل یک فاکتور محدود کننده کیفیت، پایداری و مقاومت در برابر فساد و تخمیر مخمری است. رطوبت بالا، احتمال تخمیر را طی دوره نگه‌داری افزایش می‌دهد که به سبب فعالیت مخمرهای اسموفیلیک است که الکل و دی­اکسیدکربن تولید می‌کند و الکل می‌تواند به اسید استیک و آب اکسید شود و طعم ترش به­وجود آید. مقدار رطوبت عسل مرتبط با منشأ گیاهی است اگرچه شرایط آب و هوایی، خاک و دوره برداشت و فرآوری به شدت بر آن موثر است [14]. رطوبت پایین، کمتر از 20% ماندگاری عسل را افزایش می‌دهد. مقدار رطوبت عسل مهم است چراکه مرتبط با توانایی آن به مقاومت دربرابر تخمیر و کریستالیزاسیون طی نگه­داری است و مقدار رطوبت پایین سبب افزایش ماندگاری می­گردد. به هرحال مقدار رطوبت وابسته به دما و رطوبت نسبی منطقه جغرافیایی تولید عسل نیز می‌باشد. براساس نتایج به دست آمده، میزان رطوبت عسل بهارنارنج نسبت به سایر گونه‌های گیاهی بالاتر بوده است و با حد مجاز استاندارد بین‌المللی کدکس (بیشینه 20%) مطابقت نداشته است و این نشان می‌دهد که مقدار رطوبت عسل تحت تاثیر منشأ گیاهی آن است. چنانچه در پژوهشی، از میان 23 نمونه بررسی شده دامنه رطوبت از 1/23% تا 5/43% (w/w) متغیر بوده است و تمام نمونه­ها مقادیر بالاتر از حد توصیه شده در کدکس (2001) را نشان دادند که این موضوع اهمیت تنظیم مقررات را در مورد نمونه های عسل در ارتباط با خواص فیزیکوشیمیایی نشان می­دهد [15و 2]. میزان مواد جامد محلول مرتبط با میزان قند موجود در عسل است و شاخص مهمی در تشخیص تقلبات است.pH، شاخصی است که مرتبط با نگه­داری عسل و رشد میکروارگانیسم­ها است که می‌تواند بافت و پایداری عسل را تغییر دهد. pHنمونه­های عسل بهتر است پایین باشد تا از آلودگی میکروبی جلوگیری شود. به طورکلی عسل ها صرفه نظر از منشأ گیاهی pHاسیدی دارند و مقادیر pH درعسل مرتبط با پارامترهای دیگر است که تحت تاثیر منشأ جغرافیایی و گیاهی مانند مواد معدنی است. مقدار اسیدیته مرتبط با تعادل اسیدهای آلی موجود در عسل است. اسیدیته در عسل مرتبط با حضور اسیدهای آلی در تعادل با لاکتون­ها یا استرهای داخلی و برخی یون­های معدنی مانند فسفات است. اسیدیته بالا شاخص تخمیر قندها به اسیدهای آلی است [6]. pH اسیدی رشد و حضور میکروارگانیسم­ها را مهار می­کند.میزان موادجامد محلول، اسیدیته و pH نیز تحت تاثیر گونه گیاهی قرار گرفته و عسل کنار بالاترین میزان و عسل بهارنارنج کمترین مقدار را داشته است.هدایت الکتریکی عسل به شدت مرتبط با غلظت نمک­های معدنی، اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها است. این شاخص تغییر پذیری زیادی با منشأ گیاهی دارد و برای افتراق عسل­ها با منشأ گیاهی متفاوت مهم است. هدایت الکتریکی و خاکستر تیز تابع منشأ گیاهی عسل بوده چنانچه عسل کنار بالاترین میزان هدایت الکتریکی و خاکستر را داشته است.نمونه­های با هدایت الکتریکی کمتر از ms/cm 8/0، عسل‌های حاصل از نکتار می‌باشند. عسل کنار میزان هدایت الکتریکی بالاتر از حد مجاز ( بیشینهms/cm8/0) داشت و سایر نمونه­ها در محدوده قابل قبول قرار داشتند، این نشان می‌دهد که نمونه‌های عسل کنار غنی از گرده گل می‌باشند. نتایج تحقیقات سایر پژوهشگران بر روی عسل­های تک­گل تولید شده در مناطق نیمه خشک برزیل مشخص نمود که، عسل­های مورد مطالعه، هدایت الکتریکی s/cmμ 670-300 داشتند و اختلاف معنی­دار در میزان هدایت الکتریکی نمونه­های عسل با منشأ گیاهی متفاوت دیده شد ( 05/0p<). میزان خاکستر در عسل هایی با منشأ گیاهی متفاوت اختلاف معنی­دار نداشتند (05/0 p≥). مقدار خاکستر مرتبط با مواد معدنی کل موجود در عسل است و به شرایط محیطی، جغرافیایی و گیاهی وابسته است [12]. نتایج پژوهش صورت گرفته توسط سایر محققین بر روی ویژگی های فیزیکوشیمیایی4 نوع عسل آویشن، زول، پونه و شوید جمع آوری شده از استان گلستان نیز نشان داد که عسل شوید بیشترین میزان رطوبت را و عسل زول بیشترین محتوای خاکستر را نسبت به سایر عسل های مورد آزمون داشته‌اند.همچنین میزان اسیدیته نمونه های مورد بررسی 92/13-58/12 میلی اکی والان در کیلوگرم و pH نمونه ها در محدوده اسیدی 26/4-15/4 قرار داشت [7]. همچنین مطالعات عده ای از پژوهشگران نیز نشان داد که، میزان مواد جامد محلول در نمونه­های عسل در دامنه 79-1/84، اختلاف معنی­دار داشتند. اسیدیته کل در مطالعه اخیر در محدوده قابل قبول (بیشینه meq/kg50) قرار داشت [2] و نشان­دهنده عدم تخمیر است. مقادیر pHبرای نمونه های مطالعه شده به طور متوسط 055/0 ±76/4 بود. میزان خاکستر نمونه ها 066/0-316/0% بود که در محدوده مجاز عسل (6/0%) قرار داشت [6]. این در حالی است میزان pH و اسیدیته نمونه های عسل آویشن در مطالعه اخیر نیز در محدوده اسیدی قرار داشتند اما نمونه های عسل گون و کنار مقادیر بالاتر از محدوده اسیدی را نشان دادند و این موضوع تاثیر منشاء گیاهی و شرایط آب و هوایی را بر ویزگی های شیمیایی عسل اثبات می نماید. منوساکاریدهای گلوکز و فروکتوز اجزاء اصلی عسل هستند. نسبت فروکتوز به گلوکز به توانایی عسل به کریستالیزاسیون مرتبط است چراکه گلوکز نسبت به فروکتوز کمتر محلول است (کریستالیزاسیون سریع تر است زمانی­که نسبت فروکتوز به گلوکز کمتر از 1 است و آرام است زمانی­که نسبت بالاتر از 1 باشد). 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 است. علاوه براین کریستالیزاسیون وابسته به عوامل دیگر مانند مقادیر قند (ساکارز، گلوکز، فروکتوز و ...)، مواد نامحلول (دکسترین، کلوئید، گرده و ...) و دمای نگه‌داری است که بر فرایند کریستالیزاسیون موثر است. نتایج نشان می­دهد که عسل بهارنارنج با بالاترین نسبت فروکتوز به گلوکز تمایل کمتری به کریستالیزاسیون نسبت به انواع دیگر عسل دارد.بالا بودن ساکارز در نمونه های عسل می تواند نشانه افزودن شکر یا برداشت پیش از موعد عسل باشد.نسبت فروکتوز به گلوکز به عنوان شاخصی از میزان کریستالیزاسیون و طبیعی بودن عسل در نمونه‌های عسل گون و کنار کمترین میزان را به خود اختصاص داده و سبب کریستالیزاسیون سریع آن­ها نسبت به سایر نمونه‌های مورد مطالعه شده است. میزان ساکارز در نمونه‌های عسل گون، کنار، آویشن و چهل گیاه از حد مجاز استاندارد بین‌المللی کدکس (بیشینه 5%) تجاوز نموده است [2] و می‌تواند نشانه تغذیه زنبورعسل با شکر یا برداشت پیش از موعد آن باشد. یافته های سایر محققین در بررسیخواص فیزیکوشیمیایی 10 نمونه عسل گیاهی طبیعی (گشنیز، شوید، کنار، آویشن، جعفری، قنقال، گون، یونجه، گون گز و بهارنارنج)؛ نشان داد که بیشترین و کمترین ساکارز به ترتیب مربوط به عسل شوید و گون گز بوده و مقادیر آن خارج از محدوده تعیین شده در استاندارد کدکس می باشد [16]. هیدروکسی متیل فورفورال شاخصی از تازگی عسل است و در عسل تازه وجود ندارد و با افزایش فرآوری و رسیدگی محصول میزان آن بالا می‌رود. چندین عامل بر میزان هیدروکسی متیل فورفورال موثر است ازجمله دما و زمان حرارت دهی، شرایط نگه‌داری، pH، منشأ گیاهی. میزان بالای هیدروکسی متیل فورفورال شاخصی از حرارت دهی بیش ازحد و شرایط نامطلوب نگه‌داری است.در تمام نمونه­های عسل مورد مطالعه به استثناء عسل بهارنارنج مقادیر هیدروکسی متیل فورفورال بالاتر از حد مجاز (بیشینه mg/kg40 ) بود که نشان­دهنده اعمال حرارت بر روی نمونه­ها و یا کهنگی عسل است. دیاستاز نیز آنزیم طبیعی عسل است که مقدار آن وابسته به منشأ جغرافیایی و گیاهی و تازگی عسل است که نمونه­های عسل گون،کنار، آویشن و چهل­گیاه میزان فعالیت دیاستازی کمتر از حد استاندارد (کمینهG0 8) بوده و فقط نمونه عسل بهارنارنج در محدوده قابل قبول قرار داشتند. یافته های محققین در بررسی ویژگی های فیزیکوشیمیایی عسل های آرژانتین نیز تفاوت معنی­داری میان انواع عسل از نظر میانگین هیدروکسی متیل فورفورال نشان داد [17]. همچنین یافته های سایر محقیقن در بررسی پارامترهای فیزیکوشیمیایی و ترکیب قندی 85 نمونه عسل اسپانیا نشان داد که تمام نمونه­های عسل مطالعه شده شاخص­های در محدوده مجاز داشتند. تمام شاخص­های فیزیکوشیمیایی و قند به جز دیاستاز تفاوت معنی­داری بین نمونه­های آنالیز شده نشان داد و در بین نمونه­های مطالعه شده، عسل آواکادو شاخص فیزیکوشیمیایی متفاوتی با سایر انواع داشته است [18]. همچنین در پژوهشی ویژگی های حسی و فیزیکوشیمیایی 7 نوع عسل منطقه اسلوونی شامل هدایت الکتریکی، رطوبت، اسیدیته، پرولین بررسی گردید و نتایج نشان داد که تنوع گسترده ای در میان انواع عسل ها از نظر ویژگی های مورد بررسی وجود دارد. مقادیر کمتر ویژگی های آزمون شده مربوط به عسل های روشن مانند اقاقیا و عسل حاصل از چند گل و مقادیر بالاتر مربوط به عسل های تیره تر مانند شاه بلوط، شاه درخت و صنوبر بوده است [20]. بنابراین تاثیر منشاء گیاهی و منطقه جغرافیایی بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی عسل اثبات شده وتعیین ویژگی های مذکور براساس عوامل مذکور ضروری می باشد. میزان آلودگی میکروبی نمونه‌های عسل وابسته به منشأ گیاهی نبوده و اختلاف معنی‌دار بین نمونه‌ها مشاهده نشد (p>0.05). برخی محققین، سطوح بالایی از آلودگی به مزوفیل­های هوازی (متوسط cfu/gr244)، کپک و مخمرها (متوسط cfu/gr34) را شمارش کردند و کلستریدیوم احیاء کننده سولفیت در نمونه ها منفی بود [21]. همچنین مطالعه ویزگی های میکروبی روی 5 نمونه عسل تولیدی در کشور پرتغال نشان داد که مزوفیل­های هوازی، کپک، مخمر و کلستریدیوم­های احیاءکننده سولفیت در حد قابل قبول قرار داشتند [15].

بنابراین، ویژگی‌های فیزیکوشیمایی (رطوبت، موادجامد محلول، اسیدیته، pH، هدایت الکتریکی، خاکستر، ساکارز، نسبت فروکتوز به گلوکز، هیدروکسی متیل فورفورال و پرولین) وابسته به منشأ گیاهی نمونه‌های عسل بوده است در حالی­که ویژگی­های میکروبی (کپک، مخمر و کلستریدیوم های احیاء کننده سولفیت) به منشأگیاهی عسل وابسته نبوده است. با توجه به نتایج به­دست­آمده پیشنهاد می‌شود استانداردهای موجود در زمینه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عسل با توجه به منشأ گیاهی آن مورد بازنگری و بررسی قرار گرفته و در تعیین حدود قابل قبول هر ویژگی، در استانداردهای مربوطه، منشأگیاهی نمونه های عسل مد نظر قرار گیرد.

**5- تشکر و قدردانی**

نویسندگان مقاله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری برای تامین هزینه طرح پژوهشی با شماره کد 09-1397-02 و هم­چنین پژوهشگاه استاندارد کرج به جهت امکان اجرای طرح در آن تشکر و قدردانی می­نمایند.

**6- منابع**

[1] El-Haskoury, R., Kriaa, W., Lyoussi, B., Makni, M.2017.Ceratoniasiliqua honeys from Morocco: Physicochemical properties, mineral contents and antioxidant activities. Journal ofFood and Drug Analysis, Article in Press.

[2] Codex Alimentarius. 2001.Codex standard for honey, 12-1981:1-8.

[3] Alqarni, A.S., Owayss, A.A., Mahmoud, A.A. 2016. Physichochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. Arabian Journal of Chemistry, 9:114-120.

[4] Statistical information of agriculture. 2016. Ministry of Agriculture, 2th edition, PP: 109-111 [In Persian].

[5] Hashemi, M. 2002. Comprehensive honey therapy book: Food, drug and drug bee treatments, first edition, FarhangeJame Publication, pp: 22-25 [In Persian].

[6] Habib, H.M., Al Meqbali, F.T., Kamal, H., Souka, U.D., Ibrahim, W.H.2014.Physicochemical and biochemical properties of honeys from arid regions. Food Chemistry,153:35-43.

[7] HizomiShirejini, S., Kooshani, H., SeyyedAlangi, S.Z. 2018. Antibacterial activity and physic-chemical analysis of several types of honey with different floral origions in the Golestan Province, Iranian Food Science and Technology Research Journal, 14(2): 273-282 [In Persian].

[8] JahedKhaniki, Gh.R.,Kamkar, A. 2005. A survey of physic-chemical properties of produced honey in Garmsar City in 2003, Food science and Technology, 2(4): 35-41 [In Persian].

[9] Gheisari, H.R., HamidianShirazi, A.R. 2008. Comparision and evaluation of physicochemical properties and adultration in produced honeys of Shiraz Province in different seasons, Research in Iran Science and Technology, 4(2): 57-69 [In Persian].

[10] Ramzi, M., Kashaninejad, M., SadeghiMahoonak, A.R., Razavi, S.M.A. 2015. Comparision of physico-chemical and rheological characteristics of natural honeys with adultrated and sugar honeys, Iranian Food Science and Technology Resarch Journal, 11(4):392-407 [In Persian].

[11] AOAC. 2005. Official methods of analysis of the association of analytical chemists international, 18th edition, Gathersburg, MD U.S.A .

[12] Batista de souse, J.M., Leite de Souza, E., Marques, G., Benassi, M.T., Gullon, B., Pintadu, M.M., Magnani, M.2016. Sugar profile, physichochemical and sensory aspects of monofloralhoneys produced by different stingless bee species in Brazilian semi-arid region, LWT-Food Science and Technology, 65:645-651.

[13] International Organization for Standardization (ISO). 2008.Microbiology of food and animal feeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds- part2: colony count technique in products with water activity less than equal to 0.95, ISO No.21527-2:2008

[14] 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, 48:544-548.

[15] Biluca, F.C., Braghini, F., Gonzaga, L.V., Oliveira Costa, A.C., Fett, R. 2016. Physicochemical profiles, minerals and bioactive compounds of stingless bee honey (Meliponinae), Journal of Food Composition and Analysis, 50:61-69.

[16] Khalfy, R., Goli, S.A.H., BehjatianIsfahani, M. 2016. Evaluation of physical and antioxidant activity of 10 different botanical honeys, Journal of Food Science and Technology, 51(13): 51-63 [In Persian].

[17] Silvano, M.F.,Varela, M.S., Palacio, M.A., Ruffinengo, S., Yamal, D.K.2014. Physicochemical parameters and sensory properties of honeys from Buenos Aires region.Food Chemistry. 152:500-507

[18] Manzanares, A.B., Garcia, Z.H., Goldon, B.R., Rodriguez, E.R., Romero. C.D. 2014.Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. LWT-Food Science and Technology, 55:572-578.

[19] Bertoncelj, J., Golob, T., Kropf, U. &Korošec, M. 2011. Characterisation of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach, International Journal of Food Science and Technology, 46: 1661-1671.

[20] Iurlina, M.O., Fritz, R. 2005.Characterization of microorganisms in Argentinean honeys from different sources, International Journal of food microbiology, 105:297-304.

**Study of physicochemical and microbial characteristics of honeys with different floral origin in Alborz province**

**RaftaniAmiri, Z. 1[[2]](#footnote-3)\*, Belgheisi, S. 2**

1. Associate Professor, Dept. of Food Science and technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

2. Instructor, Dept. of Food Science & Technology, Faculty of Food Industry and Agriculture, Standard Research Institute (SRI), Karaj, Iran

**(Received: 2018/09/17 Accepted:2018/12/18)**

Identification of standard physicochemical and microbial characteristics in food products is important. Since the chemical composition of honey varies from origins, it is necessary to review and revise its properties in accordance with these factors. In this study, the physicochemical properties and microbial characteristics 30 honey samples were evaluated from different vegetation sources (*Milkvetch, Jujube, thymes*, *Orange blossom andMulti -flower*) and compared with the characteristics defined in the International Standard Codex. The results showed that the moisture content of *Orange blossom* e honey was higher than other herbaceous species and did not conform to the International Codex Standard (maximum 20%). Also, sucrose content in *Milkvetch, Jujube, thyme*s and *multi-flower* was higher than the International Codex Standard (maximum 5%). Hydroxymethylfurfural in all specimens, with the exception of *Orange blossom* honey, were higher than the maximum (40 mg/kg). Diastase in *Milkvetch*, *Jujube, thymesandMulti -flower* was below the standard (minimum G08). Proline in all specimens, with the exception of *Milkvetch*, was within the permissible International Codex Standard (minimum 180 mg/kg). The amount of microbial contamination of honey samples is not dependent on plant origin and there is a significant difference between samples (p>0.0).According to the results, it is suggested that the existing standards regarding to the physicochemical characteristics of honey be reviewed and evaluated according to its herbaceous origin, and the plant origin should be considered in determining the acceptable tolerances of each feature.

**Key words:** Honey, Physicochemical, Microbial, Plant origin, Alborz

1. \*مسئول مکاتبات:zramiri@gmail.com [↑](#footnote-ref-2)
2. \* Corresponding Author E-Mail Address: zramiri@gmail.com [↑](#footnote-ref-3)