تاثیر فصل برداشت عسل بر ویژگی های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و آنتی اکسیدانی آن

شادی بصیری[1]، فرزاد غیبی[1]، نوید بصیری[2]

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: ۱۳۹۶/۹/۲۲ **تاریخ پذیرش**: ۱۳۹۶/۱۱/۱۱

رایانامه: shbasiri35@yahoo.com

چکیده:

عسل، ماده طبیعی شیرینی است که زنبور عسل آن را از شهدگل ها وگیاهان جمع آوری، عمل آوری و درکندو ذخیره می کند. فصل برداشت عسل، شرایط اقلیمی، منبع شهد و نحوه ی فراوری آن، تأثیر مهمی بر کیفیت، ترکیب و ویژگیهای بیوشیمیایی عسل دارد. هدف از این تحقیق، تعیین اثر فصل برداشت عسل بر خواص فیزیکوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و میکروبی عسل طبیعی می باشد لذا بدین منظور نمونه های عسل در دو فصل بهار و پاییز از سه شهرستان کاشمر، شیروان و نیشابور در استان خراسان برداشت شدند. عسل ها کاملا خالص بوده و از گلهای طبیعی موجود در منطقه تهیه شدند. در این پژوهش نتایج نشان دادکه میانگین رطوبت عسل های بهاره با ۱۶/۶ درصد و مواد جامد محلول ۸۱/۳۶ درصد، نسبت به عسل های برداشت شده در فصل پاییز با رطوبت ۱۵/۰۸ درصد و مواد جامد محلول ۸۳/۳۳ درصد، به ترتیب میزان رطوبت بیشتر و بریکس کمتر را داشتند.

همچنین عسل های بهاره با شدت رنگ ۰/۰۰۵ درصد، دارای رنگ روشن تر نسبت به نمونه های پاییزه بودند. عسل های بهاره دارای ترکیبات فنلی بیشتر (۰/۰۶۷ میلی گرم در کیلو گرم عسل) و قدرت آنتی اکسیدانی بالاتر (۶۱/۱۸۵۶) و خاصیت ضد باکتریایی زیادتر (۱۰۰ درصد) نسبت به نمونه

های عسل پاییزه با ترکیبات فنلی (۰/۰۳۳ میلی گرم در کیلو گرم عسل) ، قدرت آنتی اکسیدانی (۳۵/۵۳۳۲) و خاصیت آنتی-باکتریایی (۴۴/۴۴ درصد)، بودند. تمام نمونه های عسل فاقد باکتری های بی هوازی احیاءکنندهٔ سولفیت بودند که نشان دهنده کیفیت مناسب میکروبی نمونه های عسل و مدیریت بهداشتی صحیح در فراوری آن بود.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدانی ، فصل برداشت عسل ، عسل طبیعی ، فیزیکوشیمیایی ، میکروبی.

مقدمه

عسل ماده طبیعی شیرینی است که زنبور عسل آن را از شهدگل ها ، شکوفه ها ، تراوش بخش زنده گیاهان ، ترشحات حشرات مکنده روی قسمت های زنده گیاهان جمع آوری ، عمل آوری و در کندو ذخیره می کند. منظور از عمل آوری ، اضافه کردن آنزیم های مختلف و تبخیر رطوبت اضافی و رساندن آن به وسیله زنبور عسل است (استاندارد ملی شماره ۹۲). عسل یک محلول فوق اشباع از قندهای فروکتوز و گلوکز است و دارای مقادیر کم ساکارز و مالتوز ، آنزیم ها ، ترکیبات فنلی ، پروتئین ها ، لیپیدها ، ویتامین ها ، اسیدهای آلی و سایر ترکیبات گیاهی می باشد (Gomes *et al*., 2010 & Corbella *et al*., 2006).

عسل محصولی با ارزش ، مغذی و پرانرژی بوده و دارای خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی است که می تواند به صورت مستقیم و یا به عنوان شیرین کننده و نگهدارنده در تولید مواد غذایی مورد استفاده قرار گیرد (Gomes *et al*., 2010 & Corbella *et al*., 2006 & Guo *et al*., 2011). مهمترین خاصیت عسل علاوه بر ارزش غذایی ، خواص دارویی آن است که در معالجه اختلالات و التهابات دستگاه گوارش ، ترمیم زخم های پوستی ، ناراحتی های قلبی و تصلب شرائین استفاده می شود (قیصری و حمیدیان شیرازی ، ۱۳۸۷). در سال های اخیر در استفاده از آنتی اکسیدان ها در رژیم غذایی طبیعی به عنوان یک محافظ مؤثر در برابر آسیب اکسیداتیو ، توجه زیادی شده است. آنزیم ها در عسل به عنوان آنتی اکسیدان از طریق افزایش حذف اکسیژن این نقش را ایفا می کنند. پلی فنل ها در گیاهان به علت خاصیت آنتی اکسیدانی و عوامل حفاظتی در برابر آسیب های مختلف عمل می کنند.

بنابراین ممکن است نقش مهمی در کنترل واکنش های اکسیداتیو در بدن انسان ایفا کنند (Alvarez-Suarez *et al*., 2010). ظرفیت آنتی اکسیدانی عسل نیز مانند سایر خصوصیات به منابع گل که اغلب وابسته به عوامل فصلی و محیط زیست بوده (Silici *et al*., 2010) و همچنین به روش فراوری عسل بستگی دارد (Pichichero *et al*., 2009).

عطر و بوی عسل متناسب با گل و گیاهی است که زنبور از آن استفاده کرده است. از مهمترین ویژگی های شیمیایی عسل که باید در پژوهشها ارزیابی شوند، اندازه گیری قندهای احیاء کننده، ساکارز، رطوبت، اسیدیته، فعالیت دیاستازی، خاکستر، بریکس و هدایت الکتریکی هستند (Gomes *et al*., 2010). ویژگی های میکروبی عسل باید مطابق با استانداردهای ملی میکروبیولوژی عسل با شماره ۷۶۱۰ ، باشد.

فصل برداشت عسل، روش تولید، شرایط فرآوری، شرایط اقلیمی، مدت زمان ذخیره سازی ، محل نگهداری و همچنین منبع شهد، تأثیر مهمی بر کیفیت، ترکیب و ویژگیهای بیوشیمیایی عسل دارد و به همین دلیل عسل ها بسته به فاکتورهای مذکور می توانند خصوصیات فیزیکی شیمیایی متفاوتی داشته باشند.

از سوی دیگر عسل در تمام طول سال توسط مصرف کنندگان استفاده می شود. به همین دلیل حفظ کیفیت آن در حین نگهداری اهمیت ویژه ای دارد. به دلیل تغییرات فیزیکی شیمیایی عسل پس از فرآوری و بسته بندی، کنترل کیفی این محصول در سطح تولید و عرضه از اهمیت فراوانی برخوردار است. عسل به آسانی هضم میشود و در مقایسه با ساکارز برای مصرف کننده خوشایندتر است (Mendes, 1998). عسل یك محصول ارزشمند برای ورزشکاران، کودکان و محققین است (Erejuwa *et al*., 2012) ترکیب شیمیایی و کیفیت عسل بستگی به فاکتورهای مختلف نظیر منطقه جغرافیایی و تنوع پوشش گیاهی آن، شرایط آب و هوایی در دوره تولید عسل، ترکیبات نکتار، شیوه های پرورش زنبور عسل، روش فراوری و نحوه حمل و نقل در طی استخراج عسل تا نگهداری آن، دارد (Marchini, 2006. & Iglesias, 2012). بسیاری از محققین پی بردند که قدرت سلامت زایی عسل تحت تاثیر خواص فیزیکوشیمیایی آن است (Adenekan, 2012. & Nwankwo, 2014).

آشنایی با خواص و ویژگیهای شهدگیاه مورد استفاده، اهمیت زیادی دارد (Kucuk, 2007). از این موضوع برای تشخیص و مقایسه عسلهای طبیعی و تقلبی استفاده می شود (Celement, 2002). تاکنون مطالعات زیادی در اقصی

نقاط دنیا برای ارزیابی ویژگیهای مختلف عسل، انجام شده است (Saxena *et al*., 2010).

خواص فیزیکی عسل ها بستگی به میزان رطوبت، نوع پوشش گیاهی و درجه حرارت محیط، نسبت قندهای موجود و میزان آنزیم ها در عسل و ... دارد. عسل تازه، یك مایع فوق اشباع است و حاوی بیشتر قندهایی است که می توانند معمولا در دمای معمولی در آب حل شود. رنگ عسل در یك محدوده از زرد خیلی کم رنگ کهربایی تا قرمز تیره متمایل به سیاه متغیر است.

یکی از عوامل موثر در اختلاف رنگ عسل مربوط به نوع گیاهی است که مورد استفاده زنبور عسل می باشد. هر چند که آب و هوا ممکن است رنگ را تغییر دهد به طوری که حرارت دادن عسل تا حدودی باعث تیره شدن رنگ میشود. طعم و عطر عسل حتی بیشتر از رنگ آن در یك محدوده بینهایت متغیر قرار دارد و همانند رنگ تحت تاثیر نوع گیاهی است که مورد استفاده قرار می گیرد. معمولا عسل با رنگ روشن طعم ضعیف و عسل تیره طعم بیشتر دارد. هر فرد می تواند عسل دلخواه خود را با توجه به متغیرهای موجود تعیین کند (Krishna *et al*., 2015).

هدف از این تحقیق، تعیین اثر زمان فصل برداشت عسل بر خواص فیزیکوشیمیایی، میکروبی و آنتی اکسیدانی عسل طبیعی بود. برای این منظور عسل های مناطق مختلف استان خراسان جمع آوری و ویژگیهای مورد نظر ارزیابی شدند.

مواد و روش ها

جمع آوری نمونه های عسل

عسل مورد استفاده در این پژوهش، به صورت مستقیم از زنبورداران معتبر و مطمئن تهیه شد. عسل ها طبیعی بوده و از گلهای موجود در منطقه در دو زمان مختلف، یعنی بهار و پاییز از سه شهرستان کاشمر، شیروان و نیشابور در استان خراسان تهیه شدند. عسل ها در محل تاریك و خنك در محیط آزمایشگاه نگهداری شدند تا آزمایشات اولیه روی آنها انجام شد. در این پژوهش خواص فیزیکوشیمیایی، آنتی اکسیدانی و میکروبی عسل ها براساس روشهای مندرج در استاندارد ملی ایران (شماره ۹۲، ویرایش هفتم) به شرح زیر اندازه گیری شده و مورد ارزیابی قرارگرفتند.

روش های آزمون:

۱- رطوبت: در این پژوهش درصد رطوبت موجود در نمونه های عسل با استفاده از روش رفراکتومتری اندازه گیری شد.

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

۳- pH: میزان pH در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد و به کمك دستگاه pH متر اندازه گیری شد.

۴- اسیدیته: با رقیق کردن عسل مطابق استاندارد به روش تیتراسیون انجام شد.

۵- خاکستر: از کوره الکتریکی با دمای ۶۰۰ درجه سانتیگراد برای تعیین درصد مواد معدنی استفاده شد.

۶- میزان قند های احیا کننده: درصد قندهای احیا کننده به روش لین آینون طبق فرمول زیر محاسبه شد.

$$S=F\times250\times100/V\times W\times1000$$

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

۷- مقدار گلوکز: با استفاده از روش یدومتری و تیتراسیون محلول نمونه عسل آزمون قندهای احیا کننده، درصد گلوکز موجود در نمونه از فرمول زیر به دست می آید.

$$G= 250\times9.01\times D\times100/25\times W\times1000$$

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

۸- مقدار فروکتوز:

از تفاوت 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.

۹- فعالیت آنزیم آمیلاز: فعالیت دیاستازی بر حسب عدد دیاستازی (DN)، یك فاکتور کیفی است که در اثر ماندگاری عسل و حرارت تغییر میکند و نشانگر تازه یا کهنه بودن عسل یا حرارت دیدن عسل است. با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و مقایسه رنگ محلول ها بعد از هضم آنزیمی، مقدار نشاسته محاسبه می شود.

۱۰- ترکیبات فنلی: جذب نمونه محلول در ۷۶۰ نانومتر به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. اسید گالیك به عنوان محلول استاندارد و کل ترکیبات فنلی به صورت میلی گرم اسید گالیك در ۱۰۰ گرم نمونه عسل تعیین شد (Single-ton *et al*., 1999).

۱۱- اسپور کلستریدیوم های احیا کننده سولفیت: از نمونه های عسل در محیط کشت SPS agar به صورت

پورپلیت دولایه ای کشت داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت به صورت بی هوازی انکوبه شد (Finola *et al*., 2007).

۱۲- رنگ: رنگ نمونه ها با قرائت جذب محلول ۵۰ درصد وزنی- حجمی نمونه های عسل با استفاده از اسپکتروفتومتر، Vis-UV مدل 9200-UV (Raylegh چین) در طول موج ۶۳۵ نانومتر اندازه گیری شد (White, 1984).

۱۳- قدرت ضد باکتری: اثرات ضد باکتری نمونه های عسل بر باکتریهای گرم مثبت (باسیلوس سوبتیلیس) و گرم منفی (اشرشیا کلی) از روش Agar well assay dif-fusion مورد ارزیابی قرار گرفت (سلاحورزیان و همکاران، ۱۳۹۴). به طوری که اثر نمونه های عسل بر توقف رشد و مرگ میکروارگانیسم های مورد نظر بررسی شد. در صورت وجود آنزیمهای اکسیدکننده قوی و ترکیبات آنتی اکسیدانی در عسل، خاصیت ضدباکتریایی عسل قابل توجه بوده و به صورت مثبت عنوان می شود (طالعی و همکاران، ۱۳۸۲).

۱۴ - قدرت آنتی اکسیدانی : قدرت گیرندگی رادیکال های آزاد DPPH به روش توصیفی توسط (Ferreira *et al*., 2009) ، تعیین و جذب نمونه درطول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر شاهد پس از یك ساعت نگهداری در دمای اتاق (۲۲ درجه سانتیگراد) اندازه گیری شد.

۱۵- مقدار بتاکاروتن: اندازه گیری در طول موج ۴۵۳ نانومتر در مقایسه با نمونه شاهد در دستگاه اسپکتروفتومتر صورت گرفت. کل مقدار کاروتنوئید به صورت میلی گرم بتاکاروتن در ۱۰۰ میلی لیتر نمونه عسل تعیین شد (Ferrei-ra *et al*., 2009).

روش آماری

مدل آماری مورد استفاده، آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی بود. آزمایشات در ۳ تکرار انجام شدند. تجزیه و تحلیل داده ها و مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار Mini Tab انجام گرفت.

نتایج و بحث

مطابق جدول انالیز واریانس، تاثیر فصل تولید عسل بر رنگ، رطوبت و بریکس نمونه های عسل کاملا معنی دار بود (P<۰/۰۱). مقایسه اثر فصل برداشت عسل بر میانگین ویژگی های فیزیکی (رنگ، رطوبت و بریکس) نمونه های عسل در جدول ۱ مشاهده می شود.

جدول۱) توزیع فراوانی مطلق و نسبی نمونه های مورد بررسی بر حسب نوع نمونه در کل سه فصل

فصل	رنگ	رطوبت (درصد)	بریکس (درصد)
پاییز	۰/۰۲۵[a]	۱۵/۰۸۸[b]	۸۳/۳۳۳[a]
بهار	۰/۰۰۵[b]	۱۶/۶۸۸[a]	۸۱/۳۶۱[b]

در هر ستون میانگین های دارای حروف مشترك در یك سطح آماری قرار دارند (آزمون دانکن P<۰/۰۱)

مطابق نتایج مقایسه میانگین تاثیر زمان بر ویژگی های رنگ، رطوبت و بریکس نمونه های عسل به دست آمده در دو فصل پاییز و بهار نشان داد که رنگ نمونه های عسل به صورت معنی داری در فصل پاییز تیره تر از فصل بهار می باشد. رنگ هر نوع عسل بستگی به موقعیت جغرافیایی، نوع گیاه ، میزان بارندگی، شرایط خاک و فصل 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 می کند (Cooper, 1999).

بارندگی زیاد باعث افزایش رطوبت و در نهایت روشن شدن رنگ می شود. رنگ عسل از کهربایی روشن در فصل بهار تا کهربایی تیره در فصل پاییز متغیر است.

رطوبت یکی از مهمترین ویژگیهای فیزیکوشیمیایی عسل بوده و در کنار پارامترهای دیگر می تواند در بررسی کیفیت عسل تعیین کننده باشد. رطوبت طبیعی موجود در عسل، به آب و هوای منطقه و رطوبت شهدی که عسل از آن تهیه میشود، بستگی دارد. رطوبت در طول مدت ماندگاری عسل در حین زمان نگهداری تاثیرگذار است. از سوی دیگر عسل یک ترکیب رطوبت پذیر است[1] ، 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 (جلیلیان و همکاران ، ۱۳۹۲).

رطوبت زیاد در عسل می تواند باعث تخمیر عسل در حین نگهداری و تولید دی اکسید کربن و اتانول شود. الکل تولیدی به اسید استیک و آب اکسیده شده و باعث ایجاد طعم و مزه ترشی در عسل میشود (Viuda-Martos *et al*., 2010). رطوبت زیاد می تواندکریستالیزاسیون را در انواع عسل تسریع کرده و فعالیت آبی آن را تا مقداری که برخی

1- Hygroscopic

از مخمرها بتوانند در آن رشد کنند افزایش دهد (Gomes *et al.*, 2010). رطوبت بالای عسل نشان دهنده برداشت زودهنگام یا به عبارتی نارس بودن عسل و یا برداشت تحت شرایط رطوبت بالا است (Ajlouni *et al.*, 2010). رطوبت عسل بستگی به روشهای فراوری و شرایط نگهداری عسل نیز دارد (Bertoncelj *et al.*, 2011).

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 بیشتری از عسل پاییزه دارد. در پژوهش حاضر، بیشترین میزان رطوبت مربوط به نمونه های عسل برداشت شده در فصل بهار بود و تاییدی بر قانون موجود و پژوهش های انجام شده است.

درصد مواد جامد محلول یا درجه بریکس تحت تاثیر عوامل مختلف نظیر نوع پوشش گیاهی، موقعیت جغرافیایی و زمان رسیدگی (Ram, 2011) همچنین در ارتباط با میزان رطوبت نمونه عسل می باشد. هر چه رطوبت عسل بیشتر باشد درصد مواد جامد محلول آن کمتر است. با مشاهده جدول ۱، درصد مواد جامد محلول نمونه های عسل در فصل پاییز به صورت معنی داری ($P<0/01$) از فصل بهار بیشتر است که تاییدی بر گفته های پیشین است. تجزیه واریانس تاثیر زمان برداشت عسل بر قدرت آنتی اکسیدانی، مقادیر بتا کاروتن و پلی فنل های موجود در عسل معنی دار بود ($P<0/01$).

پژوهش های انجام شده در این زمینه نشان داده است که مقادیر بتا کاروتن و ترکیبات فنلی موجود در یک محصول از جمله عسل بر میزان و قدرت آنتی اکسیدانی محصول تاثیر مستقیم دارد. بنابراین با اندازه گیری مقادیر بتا کاروتن و پلی فنل های نمونه های عسل در زمان های مختلف می توان قدرت آنتی اکسیدانی آنها را برآورد یا پیشگویی کرد.

جدول ۲) مقایسه اثر فصل برداشت عسل بر میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی، مقادیر بتاکاروتن و ترکیبات فنلی آن

فصل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	بتاکاروتن	ترکیبات‌فنلی
پاییز	۳۵/۵۳۲۲[b]	۰/۶۶۷[a]	۰/۰۳۳[b]
بهار	۶۱/۱۸۵۶[a]	۰/۲۷۵[b]	۰/۰۶۷[a]

در هر ستون میانگین های دارای حروف مشترك در یك سطح آماری قرار دارند (آزمون دانکن $P<0/01$)

نتایج به دست آمده در جدول شماره ۲ نشان داد که مقدار ترکیبات فنلی موجود در نمونه های برداشت شده در فصل بهار (عسل بهاره) به صورت معنی داری از نمونه های عسل پاییزه بیشتر بود.

اسیدهای فنلی، گروه مهمی از ترکیبات موثر بر خواص ظاهری و عملکردی عسل می باشند که دارای خواص تغذیه ای و درمانی نیز هستند (Alvarez-Suarez *et al.*, 2010). غلظت و نوع ترکیبات فنلی موجود در عسل ها متغیر هستند (Saxena *et al.*, 2010). این ترکیبات به شدت تحت تاثیر نوع گل، منشا جغرافیایی و ویژگی های آب و هوایی محل تولید می باشند (Escuredo *et al.*, 2012). تعیین مقدار ترکیبات فنلی موجود در عسل معیار مناسبی برای ارزیابی کیفیت و پتانسیل درمانی آن می باشد (Ouchemoukh *et al.*, 2007). از آنجا که تعداد و تنوع گلها در ماه های مختلف سال متفاوت هستند نمی توان به صورت دقیق تعیین کرد ترکیبات فنلی در چه زمان بیشتر است ولی بر حسب نوع گل می توان مقدار فنل را در گل های مختلف تعیین کرد. همچنین فصل رویش گلها نیز مشخص می باشد بنابراین از روی گلها می توان میزان فنل را در فصول مختلف برآورد کرد. عسل‌های به دست آمده در این پژوهش کم‌تر تک‌گلی بوده و اکثرا از چندین گیاه در منطقه تولید شدند.

همچنین نتایج موجود در جدول ۲ نشان داد که مقدار ترکیبات بتا کاروتن اندازه گیری شده در نمونه های عسل برداشت شده در پاییز به صورت معنی داری از عسل های بهاره بیشتر بود. به نظر می رسد نوع گل و شرایط آب وهوایی و جغرافیایی در این زمینه نقش موثر دارند. ثابت شده این ترکیبات نیز دارای خاصیت آنتی اکسیدانی هستند. ولی در مقایسه با ترکیبات فنلی از شدت کمتر برخوردارند.

در این پژوهش فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های عسل با استفاده از روش ۱ و ۱ دی فنیل ۲ پیکریل هیدرازیل (DPPH) اندازه گیری شد. فعالیت آنتی اکسیدانی عسل های طبیعی در اثر حضور بسیاری از مواد مختلف مانند آنزیم ها، اسیدهای-آلی، اسیدهای فنلی، فلاوونوئیدها، کاروتنوئیدها، اسیدهای آمینه و اسید آسکوربیک است (Zuhair *et al.*, 2011). تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی بین انواع عسل به علت تفاوت مقدار آنتی اکسیدان های عسل به خصوص میزان ترکیبات فنلی می باشد و به شدت بستگی به تعداد گروه های هیدروکسیل متصل به

حلقه بنزن این ترکیبات داشته که دهنده الکترون هستند (Socha *et al*., 2011). بالابودن فعالیت آنتی اکسیدانی عسل های بهاره به علت میزان بالای ترکیبات فنلی در آن نمونه ها میباشدکه قبلا در این مورد توضیح داده شد.

تجزیه واریانس تاثیر فصل برداشت عسل بر فعالیت دیاستازی، مقدار گلوکز، فروکتوز و نسبت فروکتوز به گلوکز نمونه های عسل معنی دار نبود.

دیاستاز یک آنزیم طبیعی در عسل میباشد (Gomes *et al*., 2010) فعالیت دیاستازی به طور عمده نشان دهنده طبیعی بودن و تازگی عسل است (Cantarelli *et al*., 2008). میزان دیاستاز عسل میتواند در حین نگهداری در دمای معمولی کاهش پیدا کند (Gomes *et al*., 2010). حداقل عدد دیاستازی براساس استاندارد کدکس ۸ تعیین شده است. با اندازه گیری فعالیت دیاستازی نمونه های عسل در دو فصل برداشت مشخص شد که نمونه ها از تازگی کامل برخوردار هستند ولی اختلاف معنی دار ندارند.

عسل حاوی قندهای ساده مانندگلوکز و فروکتوز و قندهای مرکب نظیر مالتوز، ساکارز و لاکتوز است. این قند در اثر آنزیمی به نام انورتازکه مهمترین آنزیم موجود در عسل است و از غدهٔ بزاقی زنبور ترشح می شود، به قندهای ساده یعنی گلوکز و فروکتوز تبدیل می شود. شایان ذکر است که شیرینی عسل عمدتاً مربوط به قند فروکتوز است. معمولاً در عسل میزان فروکتوز بیش از مقدار گلوکز است و نسبت فروکتوز به گلوکز بالاتر از یک است. فروکتوز از شیرین ترین قند های طبیعی است که ۱/۷ بار شیرین تر از ساکارز و ۲ تا ۲/۵ بار شیرین تر از گلوکز است. چنانچه نسبت فروکتوز به گلوکز عسل بیش از یک باشد، در بیشتر مواقع انتظار می رود که زنبورها از گل تغذیه کرده اند.

جدول شماره ۳ مربوط به فراوانی اثر ضد میکروبی نمونه ها در فصول تولید عسل می باشد. نتایج نشان می دهد که تمام نمونه های به دست آمده در فصل بهار، دارای اثر ضد میکروبی بوده ولی در بین نمونه های برداشت شده در فصل پاییز فقط ۴۴ درصد دارای این اثر بودند. اثر ضد میکروبی احتمالا مربوط به وجود مقادیر مختلف ترکیبات موثره موجود در گیاه مورد تغذیه زنبور عسل است که به عسل راه یافته و در ایجاد و افزایش اثر ضد میکروبی آن نقش دارد.

در آزمون اندازه گیری قدرت ضد باکتری عسل، روی میکروارگانیسم های گرم مثبت و گرم منفی آزمایش انجام شد. وجود آنزیمهای کاتالاز و اکسیداز که اکسید کننده های قوی هستند و همچنین وجود ترکیبات فنلی ، فلاوونوئیدی موجب بروز خاصیت ضد میکروبی در عسل می شود. هر چه مقادیر ترکیبات ذکر شده در عسل کمتر باشد خاصیت ضد باکتریایی عسل کمتر است.

جدول ۳) فراوانی نمونه های دارای اثر ضد میکروبی در هر فصل تولید عسل

فصل	تعدادکل	فراوانی	فراوانی نسبی	درصد فراوانی نسبی	درصد فراوانی نسبی به کل
پاییز	۹	۴	۰/۴۴	۴۴/۴۴	۲۲/۲۲
بهار	۹	۹	۱	۱۰۰	۵۰

در هر ستون میانگین های دارای حروف مشترك در یك سطح آماری قرار دارند (آزمون دانکن P<۰/۰۱)

اختلاف در قدرت ضد باکتریایی عسل بستگی به محل رویش گل یا گیاه ، نوع گیاه و یا گل، نوع شهد و گرده ها دارد. همچنین عوامل ذکر شده روی طعم، رنگ، بو و ترکیب شیمیایی عسل اثر دارند (Taormina, 2001).

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. این موضوع موافق با مطالعات (Allen, 1991a , 1991b) بود. اختلاف در فعالیت ضد باکتریایی عسل های چند منطقه ممکن است مربوط به اختلاف در گونه های زنبور نیز باشد (Mogessie, 1994). اختلاف در فعالیت ضد باکتریایی عسل های مختلف، می تواند به مقدار ترکیبات فنلی عسل ها و قدرت آنتی اکسیدانی آنها مربوط باشد (Kek *et al*., 2014 & Bertoncelj *et al*., 2007).

نتایج حاصل از اندازه گیری اسپورکلستریدیوم های احیا کننده سولفیت نشان داد، هر دو نوع عسل بهاره و پاییزه مورد آزمایش فاقد باکتری های بی هوازی احیاءکنندهٔ سولفیت بودند. عدم وجودکلستریدیوم های احیا کننده

سولفیت در عسل نشان دهنده مدیریت و فراوری بهداشتی و صحیح عسل است. گومز و همکاران در سال ۲۰۱۰ در این زمینه تحقیقاتی انجام و نتایج نشان داد که عاری بودن عسل از وجود اسپورکلستریدیوم های احیا کننده سولفیت، تاییدی بر کیفیت مطلوب عسل از نظر بهداشتی بود.

منبع ها:

-سلاحورزیان، ا.، عبداله پور، ف.، اسماعیلی، ا.، سپهوند، ف.، آزادپور، م. ۱۳۹۴. فعالیت آنتی اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی دو نوع عسل حاصل از تغییر در جیره غذایی زنبور در مقایسه با دیگر عسلهای تولیدی منطقه آبستان شهرستان خرمآباد. یافته، دوره هفدهم، شماره ۳. صفحات ۱۱۵-۱۲۵.

-جلیلیان، ح. ر.، بیک نژاد، د.، چایچی، م. ج. ۱۳۹۲. بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نمونه های عسل استان گلستان. نشریه ی نوآوری در علوم و فنّاوری غذایی، سال ششم. شماره ی دوم. صفحات ۶۵-۷۴.

-طالعی، غ.، مشکوه السادات، م. ه.، دلفان، ب. ۱۳۸۲. بررسی اثر آنتی باکتریال عصاره های الف، جوشن، همیشه سبز و سماق لری بر روی تعدادی باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی. فصلنامه دانشگاه علوم پزشکی لرستان. سال پنجم شماره ۱۸. صفحات ۱۹-۲۳.

-قیصری، ح، حمیدیان شیرازی، الف، ۱۳۸۷. مقایسه و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تقلبات عسلهای منطقه شیراز تولید شده در فصول مختلف، مجله پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران.

-مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، عسل- ویژگیها و روشهای آزمون، تجدید نظر هفتم، شماره ۹۲، ۱۳۹۲.

- Adenekan, M. O., Amusa, N. A., Okpezel, V. E., Owosibo, A. O. 2012. Nutritional and Microbiological Composition of Honey Samples obtained from Ogun State, Southwestern Nigeria. European Journal of Sustainable Development 1(2), 271-286.

- Ajlouni, S., and Sujirapinyokul, P. 2010, Hydroxy methyl furfuraldehyde and amylase contents in Australian honey, Food Chemistry, 119, 1000-1005.

- Allen, K., Molan, P., Reid, G. 1991a. Asurvey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys. Journal of Pharmacy and Pharmacology, Pharm.Pharmacol, 43(12): 817-822.

- Allen, K., Molan, P., Reid, G.1991b. The variability of the antibacterial activity of honey. Apiacta, 26: 114-121.

- Alvarez-Suarez, J. M., S. Tulipani, D. Díaz, Y. Estevez, S. Romandini, F. Giampieri, E. Damiani, P. Astolfi, S. Bompadre, and M. 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.

- Alvarez-Suarez, J. M., S. Tulipani, S. Romandini, E. Bertoli, and M. Battino. 2010. Contribution of honey in nutrition and human health: a review, Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, 3, 15-23.

- Bertoncelj, J., T. Golob, U. Kropf, and M. Korošec. 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.

- Bertoncelj , J., Dobersek, U., Jamnik, M., Golob, T. 2007. Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian Honey. Food Chemistry. 105: 822–828.

- Cantarelli, M. A., Pellerano, R. G., Marchevsky, E. J., Camina, J. M. 2008. Quality of honey from Argentina: Study of chemical composition and trace elements. The Journal of the Argentine Chemical Society, 96 (1–2): 33–41.

- Clement, H., Bruneau, E., Barbancon, J. M., Bonnaaffe, J., Reeb, C., Veissiere, B. 2002. Le traite rustica de

l'apiculture. Traite Rustica, 528.

- Corbella, E., Cozzolino, D. 2006. Classification of the floral origin of Uruguayan honeys by chemical and physical characteristics combined with chemometrics. LWT-Food Science and Technoloy, 39 (5): 534-539.

- Cooper, R. A., Molan, P. C., Harding, K. G. 1999. Antibacterial activity of honey against strains of Staphylococcus aureus from infected wounds. Journal of the Royal Society of Medicine. 92: 283–285.

- Erejuwa, O. O, Sulaiman, S. S., Wahab, M. S. A. 2012. Honey: A novel antioxidant. Molecules. 17: 4400–4423.

- 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.

- 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.

- Finola, M. S., Lasagno, M. C., Marioli, J. M. 2007. Microbiological and chemical characterization of honey from central Argentina. Food Chemistry. 100: 1649-1653.

- 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.

- 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.

- 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.

- 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. Agriculture Science Procedia. 2: 150–155.

- Krishna, D. G., AL-Hasani, H. H., Al-Skhbouri, 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.

- Küçük, M., Kolail, S., Karaoğlu, S,. Ulusoy, E., Baltac, C., Candan, F. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. Food Chemistry, 100, 526–534.

- Marchini, L. C., Reis, V. D. A., Moreti, A. C. C. C. 2006. Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. Ciência Rural, 36(3): 949-953.

- Mendes E, Brojo Proenc E, Implvo, F., Ferreira MA. 1998. Quality evaluation of Portuguese honey. Carbohydrate Polymers. 37, 219-223.

- Mogessie , A. 1994. The in vitro antibacterial activity of 'Tazma mar' honey produced by sting less bee. Ethiopian Journal of Health Development. 8 (2): 109–117.

- Nwankwo, C. M, Ezekoye, C. C., Igbokwe, S. O. 2014. Phytochemical screening and antimicrobial activity of apiary honey produced by honey bee (*Apis mellifera*) on clinical strains of *Staphylcoccus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. African Journal of Biotechnology, 13(23): 2367-2372.

- Ouchemoukh, S., H. Louaileche, and P. Schweitzer. 2007. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys, Food Control, 18: 52-58.

- 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.

- 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.

- Silici, S., O. Sagdic, and L. Ekici. 2010. Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys, Food Chemistry, 121, 238-243.

- 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 Enzymology, 299: 152–178.

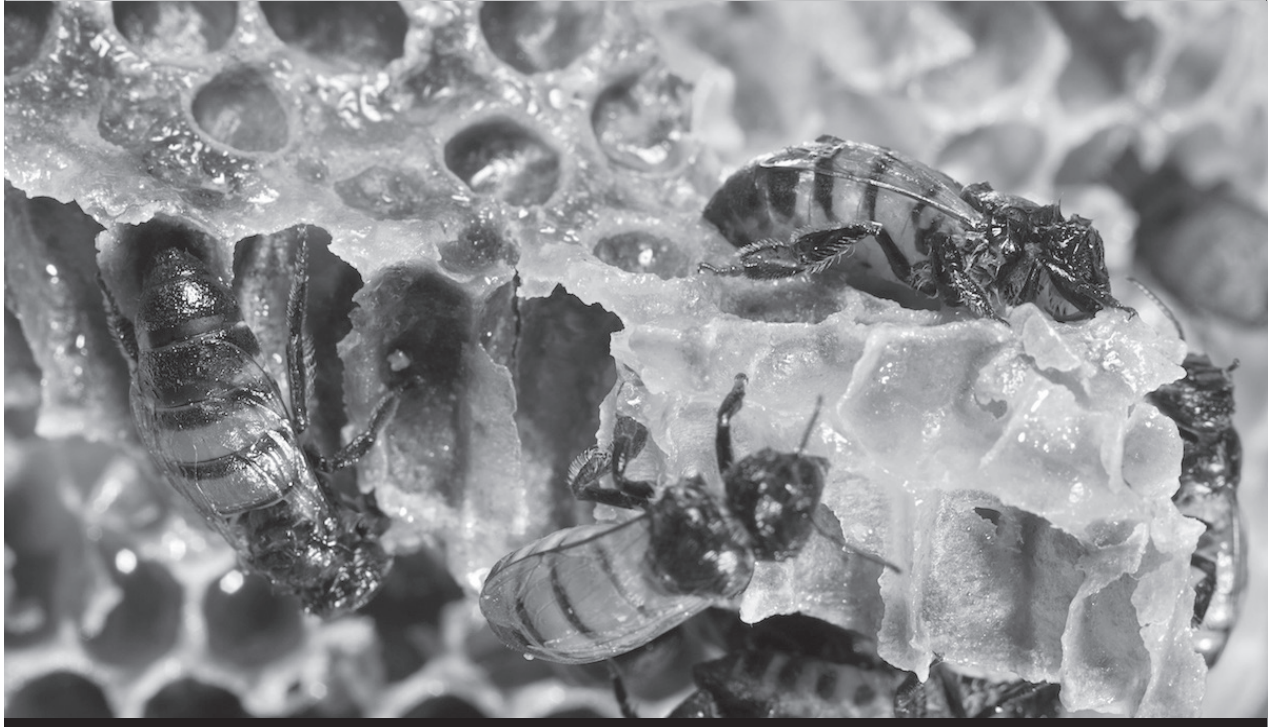
- Socha, R., L. Juszczak, S. Pietrzyk, D. Gałkowska, T. Fortuna, and T. Witczak, 2011, Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys, International Journal of Food Science & Technology, 46, 528-534.

- 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. International Journal of Food Microbiology. 69:217–225.

- 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.

- White, J. W. 1984. Instrumental color classification of honey: Collaborative study. Journal of the AOAC, 67: 1129–1131.

- 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.



The effect of honey harvest season on its physico-chemical, microbial and antioxidant properties

Sh.Basiri[1] , F.Gheybi[1], N.Basiri[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.

Abstract

Honey is a natural sweet substance that the bee collects, treats it from the floral nectar and stores it in honeycombs. Honey harvest season, climatic conditions, source of nectar and its processing have an important influence on the quality, composition and biochemical characteristics of honey. The purpose of this research is to determine the effect of honey harvest season on the physico-chemical, antioxidant and microbial properties of natural honey. Therefore honey samples were collected from three cities Kashmar, Shirvan and Neishabor in Khorasan province in two different seasons, spring and autumn. The samples of the honey were pure and were made from natural flowers in the region. 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 and the autumn honey samples had moisture content (15.08%) and brix (83.33%). 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 with phenolic compounds (0.033 mg/kg honey) and antioxidant and antibacterial properties (respectively 35.5332 and 44.44%). 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.

Key words: Antioxidant, Honey harvest time, Microbial, Natural honey, Physico-chemical.

Corresponding Author: Sh.Basiri

Email: shbasiri35@yahoo.com