نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۱۰۰، پاییز ۱۳۹۲

مقایسه ویژگی های فیزیکوشیمیایی و میکروبی عسل های با منشاء گیاهی مختلف در استان اصفهان

• **لیلا لک زاده** (نویسنده مسئول)
مربی گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرضا
• **حمید رضا قیصری**
دانشیارگروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز
• **عبدالحمید ماهیانه**
مربی مرکز آموزش علمی - کاربردی شیلات، جهاد کشاورزی بوشهر

تاریخ دریافت: دی ماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۹۱
تلفن تماس نویسنده مسئول: ۰۹۱۳۲۲۱۶۷۶۲
Email: Leila.lakzadeh@yahoo.com

چکیده

عسل یکی از مهمترین فرآورده های زنبور عسل می باشد که از نظر کربوهیدراتها بسیار غنی است. ترکیبات عسل در هر منطقه به علت شرایط آب و هوایی، نوع پوشش گیاهی، نژاد زنبور و روش های مدیریتی متفاوت می باشد. با انجام آزمایشات میکروبیولوژی و فیزیکوشیمیایی می توان کیفیت عسل در هر منطقه و عوامل مؤثر بر آن را تعیین نموده و تولیدکنندگان عسل مرغوب مورد حمایت قرار داد. بر این اساس مطالعه ای روی ۴۴ نمونه عسل با در نظر گرفتن نوع گیاهی که به طور عمده زنبور از آن تغذیه کرده بود، صورت گرفت. نتایج نشان داد که نمونه ها از کیفیت خوبی برخوردار و نوع پوشش گیاهی در ویژگی های عسل مؤثر می باشد. دامنه میزان رطوبت بین ۱۸/۶۶-۱۵/۶۴ درصد درنمونه های گون-یونجه و گون دیده شد. فروکتوز و گلوکز بین۸۰-۶۰ درصد از کربوهیدرات های عسل را تشکیل داده بودند و بالاترین نسبت بین آنها در عسل کنار (۱/۷) گزارش گردید. کمترین میزان هیدروکسی متیل فورفورال در عسل شوید و کمترین مقدار اسیدیته آزاد و بیشترین فعالیت دیاستازی در عسل گشنیز (۱۹/۸۴) دیده شد. این نتایج نشان داد که نمونه های عسل تازه بوده و روش های فرآوری و نگهداری مناسبی بعد از تولید داشته اند. باکتری های احیاکننده سولفیت در عسل ها دیده نشد و تعداد مخمر و کپک کمتر از 10^2 CFU/g بود که با استاندارد ۹۲ ایران که در آن تعداد مخمر و کپک حداکثر 10^2 CFU/g و باکتری های احیاکننده سولفیت صفر است، مطابقت دارد.

کلمات کلیدی: عسل، خصوصیات فیزیکوشیمیایی، میکروبی، پوشش گیاهی

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 100 pp: 23-30

Comparison microbial and physicochemical characterization of different origin plant honeys in Esfahan province

By: L. Lakzadeh, (Corresponding Author; Tel: +989132216762), Member of Scientific Board, Food Technology, Islamic Azad University, Shahreza Branch, H. R. Gheisari, Associate Professor of Food Hygiene, Shiraz Veterinary University, A.H. Mahianeh, Member of Scientific Board, Fisheries Applied and Vocational Education Center, Bousher

Received: January 2012 **Accepted: August 2012**

Honey is an important product of honey bee that rich in carbohydrate. Compounds of honey in each area are different due to weather conditions, type of plants, bee species and management methods. Honey quality and effective factors on it can be determined by microbial and physicochemical tests in each area and the producers of fine honey will be supported. In this way, the research has been done on 44 honey samples to consider the type of plants that bees generally feed on it. The results showed that samples have good quality and type of plants influence on honey purity. Range of humidity was seen between 15/64-18.66 percent in Astragalus-lucern and Astragalus samples. Fructose and Glucose had been formed between 60-80% of honey carbohydrates and maximum ratio of them is reported in Lotus honey (1.7). Minimum amount of hydroxyl methyl furfural was in Dill honey, Minimum amount of free acidity and greatest amount diastase activity were seen in Coriander honey (19/84). These results indicate that the samples of honey were freshness and suitable storage & processing methods have had after production. Sulfite - reducing bacteria were not seen in honeys and Numbers of yeast and fungi were < 10^2 CFU/g that these conform to 92 Iranian standards, which Numbers of yeasts and fungi, are maximum 10^2 CFU/g and sulfite- reducing bacteria are zero.

Key words: Honey, Physicochemical characterization, Microbial, Type of vegetation

مقدمه

عسل ماده طبیعی شیرینی است که زنبور عسل آن را از شهد گل ها و تراوشات و شیرهٔ گیاهان جمع آوری و پس از اضافه کردن آنزیم های مختلف و فرآوری و تبخیر رطوبت اضافی آن را در کندو ذخیره می سازد. عسل به علت داشتن اجزای تشکیل دهندهٔ مفید می تواند علاوه بر داشتن ارزش تغذیه ای بالا، سبب حفظ سلامت انسان و درمان برخی از اختلالات و بیماری ها گردد، از این رو جزء مواد مغذی عملگرا نیز محسوب می شود. مهم ترین ماده تشکیل دهنده عسل کربوهیدرات بویژه قندهای فروکتوز و گلوکز می باشند که حدود ۹۵-۸۵ درصد کربوهیدرات عسل را تشکیل می دهند. علاوه بر این قندهای احیا کننده، سایر قندها، اسیدهای آلی، اسیدهای آمینه، پروتئین ها، آنزیم ها، ویتامین ها، مواد معدنی، لیپیدها و مواد طعم دهنده نیز در عسل وجود دارند که هر چند مقادیر این مواد اندک می باشد ولی دارای خواص مفید متعددی از جمله خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدان، پری بیوتیکی می باشند. اثر ضد میکروبی عسل به شرایط فیزیکی آن (فشار اسمزی، pH) و مواد شیمیایی موجود در آن مثل پراکسید هیدرژن، مواد فنولیک، لیزوزیم و وجود باکتری های مفید یا پروبیوتیک آن نسبت داده می شود. بنابراین عسل می تواند بر علیه برخی از میکروارگانیسم های پاتوژن و عامل فساد در مواد غذایی مؤثر باشد. خواص آنتی اکسیدانی عسل بعلت وجود ویتامین های E و C و مواد فنلیک و برخی از آنزیم های موجود در آن مثل کاتالاز، پراکسیداز و گلوکز اکسیداز می باشد که با استفاده از این اثر می توان از اکسیداسیون اجزای مفید غذا مثل اسیدهای چرب ضروری جلوگیری کرد (۱، ۸، ۱۰، ۱۳).

اثر پری بیوتیکی عسل بدلیل وجود الیگوساکارید غیرقابل هضم در آن می باشد که می تواند شرایط زنده مانی و رشد میکروارگانیسم های مفید پروبیوتیکی را تقویت کرده و در جذب مواد مغذی در روده انسان مؤثر واقع شود(۱۷).

کیفیت عسل در مناطق مختلف براساس نوع آب و هوا، پوشش گیاهی، نژاد زنبور، مراحل تولید و انبارداری عسل متفاوت می باشد. از طرف دیگر مدیریت غلط و ناکافی بودن آگاهی برخی از زنبوردارها و تقلب افراد سودجو سبب کاهش کیفیت عسل شده و این ماده مغذی ارزش واقعی خود را در جامعه از دست داده است. بنابراین تعیین کیفیت عسل در مناطق مختلف لازم به نظر می رسد. کیفیت عسل با ویژگی های حسی، فیزیکی، شیمیایی و میکروبی مشخص می شود. بنابراین ارزیابی درصد رطوبت، خاکستر، اسیدیته و pH، هیدروکسی متیل فورفورال (HMF)، فعالیت دیاستاز، جستجوی قند تجاری، مقدار قند احیاکننده (گلوکز و فروکتوز) برای تعیین استاندارد عسل و ارزیابی کیفیت آن در منطقه بسیار ارزشمند است و بدین وسیله می توان عسل با ارزش بالا تهیه و از خواص آن بهره برد.

عسل همچنین می تواند به روش های مختلف در معرض آلودگی میکروبی قرار گیرد. شهد و گرده، دستگاه گوارش زنبور عسل،گرد و غبار و هوا می توانند سبب وجود میکروارگانیسم در عسل به صورت اولیه گردند و سپس دستکاری کارگران، ابزار و وسایل، ظروف، حشرات، حیوانات و گرد و غبار می توانند آلودگی میکروبی عسل را افزایش دهند. آلودگی

ثانویه عسل برخلاف آلودگی اولیه با مدیریت درست به راحتی قابل کنترل می باشد. میکروارگانیسم های موجود در عسل شامل مخمرها، قارچ ها و باکتری های تولیدکننده اسپور می باشند. وجود رطوبت بالا (۲۱ < درصد) سبب تخمیر عسل به وسیله مخمر و قارچ می گردد. مهم ترین گونه های قارچی و مخمری در عسل شامل پنی سیلیوم و موکور[1]، ساکارومایسیس و تورولا[2] می باشند. باسیلوس ها و کلستریدیوم ها نیزجزء باکتری های اسپوردار موجود در عسل هستند. ولی کلستریدیوم های احیاکننده سولفیت به عنوان یک میکروارگانیسم نشانگر و شاخص برای آلودگی عسل محسوب می شوند. از میان سویه های کلستریدیومی باکتری *Clostridium butulinum* که گاهی در عسل دیده می شود حائز اهمیت است چون این باکتری بویژه برای نوزادان زیر ۶ ماهه ریسک بسیار بالا و خطر مرگ دارد و در اطفال زیر ۲ سال نیز دارای ریسک است. بنابراین بررسی ویژگی های میکروبی عسل بسیار حائز اهمیت و لازم است(۱۱، ۱۲).

در سال۱۳۸۲ جاهد و کامکار خواص فیزیکوشیمیایی عسل تولیدی شهر گرمسار را بررسی نمودند. در این تحقیق آزمایشات تعیین درصد رطوبت، مواد جامد، وزن مخصوص، خاکستر، اسیدیته و pH انجام گرفت و نتایج نشان داد که این فاکتورها در کیفیت عسل تاثیر دارند و با توجه به میزان رطوبت۱۶/۳۲ درصد عسل این منطقه و مقایسه آن با استاندارد حداکثر ۲۰ درصد ایران مشخص گردید که میزان رطوبت در عسل این منطقه پایین است که می تواند به عنوان یکی از فاکتورهای نشان دهنده کیفیت خوب عسل باشد چون میزان رطوبت در فرایند کریستالیزاسیون و تخمیر عسل تاثیر مستقیم دارد. لذا پایین بودن آن موجب افزایش ماندگاری عسل خواهد گردید. البته میزان رطوبت به آب و هوای منطقه، ترکیب شهد نیز بستگی دارد. در سال ۱۳۸۷ قیصری و حمیدیان ویژگی های فیزیکوشیمیایی عسل را در شهرستان شیراز درچهار فصل سال مورد بررسی قرار دادند و مشخص کردندکه فصل تولید عسل دراین ویژگی ها مؤثر است به طوری که میزان قند در فصل پاییز و میزان HMF در فصل تابستان و مقدار ساکارز در فصل بهار بیشتر از بقیه فصلها بود و در مقایسه با استاندارد، عسل این منطقه ویژگی های مناسبی داشت. در بررسی آنها ۵۴/۱۷ درصد از نمونه ها در فصل بهار دارای آزمون دیاستاز منفی، در ۱۳ نمونه از ۹۶ نمونه عسل ساکارز بیش از ۵ درصد، در ۶ مورد pH کمتر از حداقل ۳/۵ و خاکستر در ۶ نمونه بالای حداکثر ۰/۶ درصد استاندارد گزارش گردید (۳، ۴).

Finola،Lasagno و Marioli (۲۰۰۷) بیست و سه نمونه عسل را از قسمت مرکزی آرژانتین مورد بررسی شیمیایی و میکروبیولوژی قرار دادند. میزان رطوبت کمتر از ۲۰ درصد و گلوکز و فروکتوز بیشتر از ۶۰ درصد کربوهیدرات های عسل ها را تشکیل داده بودند تعداد مخمر و کپک کمتر از cfu/gr ۱۰ شمارش شد ولی تعداد کلستریدیوم احیاکننده سولفیت در ۷۰ درصد نمونه ها مثبت بودکه لزوم توجه بیشتر به ویژگی میکروبی این عسل ها را مشخص کرد. Gumez و همکاران در سال ۲۰۰۹ همین ویژگی ها را در عسل های کشور پرتغال مورد بررسی قرار دادند. در بررسی آنها تمام نمونه ها کیفیت مناسبی داشتند فقط مقدار HMF و ساکارز در ۲ و ۳ تا از نمونه ها به ترتیب بیشتر از حد مجاز ۸۰ میلی گرم در کیلوگرم و ۵ درصد بود. کلستریدیوم احیاءکننده سولفیت و باکتری سالمونلا در نمونه ها دیده نشد و مقادیر مخمر، قارچ، مزوفیل های هوازی و کلی فرم مدفوعی در حد مناسبی شمارش شدند(۱۱، ۱۲).

در استان اصفهان انواع مختلف عسل مانند عسل گون، شبدر، سیاه دانه، اکالیپتوس، گشنیز، آویشن، شوید تولید می شود که هرکدام دارای خواص درمانی متفاوت و ویژگی های خاص خود هستند. البته با توجه به نوع پوشش گیاهی، عسل گون بالاترین میزان تولید را در منطقه دارد. لذا هدف از این مطالعه مقایسه ی ویژگی های فیزیکو شیمیایی و میکروبی عسل های استان اصفهان با در نظر گرفتن استانداردهای ایران بود.

مواد و روش کار

برای جمع آوری نمونه های عسل استان اصفهان، از روش نمونه برداری خوشه ای چند مرحله ای استفاده گردید. بدین صورت که ابتدا شهرستان های نجف آباد، اصفهان، خوانسار و شهرضا که تولید کنندگان مهم عسل در استان بودند، انتخاب شدند و سپس ۱۱ نوع عسل خاص که در این مناطق بیشتر تولید می شد، جمع آوری گردید. در هر شهرستان از این ۱۱ نمونه چهار عسل به صورت تصادفی تهیه گردید. پوشش گیاهی عمده ای که یازده نمونه عسل از آن به دست آمده بودند، ثبت گردید. سعی شد تمام نمونه ها کمتر از ۳ ماه از تولیدشان گذشته باشد. عسل ها در دو تکرار مورد آزمون های مختلف آزمایشگاهی زیر قرار گرفتند و در نهایت میانگین هر ویژگی برای هر عسل که مربوط به یک یا دو گیاه خاص بود، بدست آمد.

ویژگی های فیزیکی و شیمیایی

۱- برای بررسی pH و اسیدیته آزاد، حدود ۱۰ گرم از نمونه های عسل را وزن و در ۷۵ میلی لیتر آب مقطر بدون CO_2 حل کرده، ابتدا با کمک pH مترکالیبره شده با بافر ۴ و۷ در دمای ۲۰ درجه ی سانتیگراد محاسبه شد. سپس محلول در مجاورت شناساگر فنل فتالئین تا رسیدن به pH (۸/۳) با سود یک دهم نرمال تیتر گردید و آزمایش شاهد برای آب مقطر و شناساگر انجام گرفت. میزان اسیدیته آزاد از حاصل ضرب تفاوت سود مصرفی نمونه و شاهد در نرمالیته سود و عدد ۱۰۰۰، تقسیم بر وزن نمونه به گرم بدست آمد(۱).

۲- برای آزمون خاکستر، ۵ گرم عسل را در یک بوته چینی که قبلاً در کوره گذاشته شده و در دسیکاتور سرد و به وزن ثابت رسیده را وزن کرده و چند قطره روغن زیتون خالص روی آن ریخته تا در موقع سوزاندن از کف کردن زیاد و پریدن به بیرون جلوگیری نماید سپس به ملایمت حرارت داده تا کف کردن آن تمام و کاملاً سیاه شود. سپس در دمای ۶۰۰ درجه سلسیوس در کوره آن قدر آن را سوزانده تا خاکستر سفید به دست آید و به وزن ثابت برسد. تفاوت وزن بوته خالی و بوته محتوی خاکستر را به وزن نمونه مورد آزمون تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب کرده تا درصد خاکستر (مواد معدنی) به دست آید(۱).

۳- برای بررسی رطوبت بر روی سطح تمیز و خشک منشور دستگاه رفراکتومتر مقدار مناسبی از نمونه آماده سازی شده قرار داده شد سپس اندیس رفراکسیون در ۲۰ درجه سلسیوس قرائت شد و مقدار درصد رطوبت مربوطه را از روی جدول تعیین گردید(۱).

۴- اندازه گیری میزان هیدروکسی متیل فورفورال براساس روش اسپکتروفتومتری تعیین گردید .پس از شفاف کردن نمونه ها توسط معرف های کارز I, II و افزودن بی سولفیت سدیم، جذب نوری آنها در طول موج های ۲۸۴ و ۳۳۶ توسط اسپکتروفتومتر قرائت گردید و در نهایت میزان HMF با کم کردن میزان جذب امواج پس زمینه در طول موج ۳۳۶ نانومتر از میزان جذب در طول موج ۲۸۴ نانومتر به دست آمد (۲۰،۱).

۵- اندازه گیری محتوای قند کل و قندهای احیاء کننده شامل فروکتوز، گلوکز و دی ساکارید مثل مالتوز بر اساس روش لین اینون انجام گردید(۱).

۶- اندازه گیری میزان ساکارز، گلوکز، فروکتوز: برای محاسبه درصد ساکارز اختلاف مقدار قندهای احیاکننده قبل و بعد از هیدرولیز بدست آمد سپس این عدد در ضریب ۰/۹۵ ضرب گردید. مقدار گلوکز به وسیله آزمون تعیین نسبت فروکتوز به گلوکز تعیین گردید بدین صورت که به ۲۵ میلی لیتر محلول عسل ۲۰ میلی لیتر ید یکدهم نرمال و ۵ میلی لیتر از محلول سود نیم نرمال اضافه گردید سپس محلول به مدت ۱۵ دقیقه در جای تاریکی نگهداری گردید و به آن ۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال اضافه شد و بلافاصله زیادی ید با تیوسولفات سدیم یک دهم نرمال با استفاده از محلول چسب نشاسته تیتر گردید. به طور همزمان یک آزمون شاهد توسط آب مقطر انجام شد. مقدار گرم درصد گلوکز از تفاوت تیتراسیون تیوسولفات سدیم مصرفی نمونه و شاهد مطابق با فرمول مربوطه به دست آمد. مقدار فروکتوز از تفاضل مقدار گلوکز به مقدار قندهای احیاکننده قبل از هیدرولیز تعیین شد و نسبت فروکتوز به گلوکز را از تقسیم درصد فروکتوز بر درصد گلوکز به دست آمد(۱).

۷- برای آزمون کمی دیاستاز ۱۰ میلی لیتر محلول نمونه عسل آماده شده را در یک بالن ۵۰ میلی لیتری و در بالن دیگری ۱۰ میلی لیتر محلول نشاسته ریخته و هر دو را در حمام آب ۴۰ درجه سلسیوس قرار داده، بعد از ۱۵ دقیقه ۵ میلی لیتر از محلول نشاسته را به داخل عسل اضافه و مخلوط شد. در فواصل زمانی، پس از ۵ دقیقه اول ۰/۵ میلی لیتر از آن را به سرعت به ۵ میلی لیتر از محلول ید رقیق اضافه و به آن ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵ میلی لیتر آب افزوده و به خوبی مخلوط شد و بلافاصله جذب هر یک از محلول ها را به طور جداگانه در ۶۶۰ نانومتر همراه با شاهد آب مقطر در سل ۱ سانتی متری خوانده گردید. سپس همین روش برای نمونه شاهد انجام گرفت بدین صورت که به ۱۰ میلی لیتر محلول نمونه عسل آماده شده، ۵ میلی لیترآب اضافه گردید سپس ۰/۵ میلی لیتر از این محلول با ۵ میلی لیتر ید مخلوط و مقادیر آب تعیین شده برای استاندارد کردن محلول نشاسته اضافه شد و اگر شاهد جذبی را نشان داد، جذب آن از مقادیر بدست آمده از آزمون کسر گردید. در نهایت مقدار فعالیت دیاستازی از تقسیم عدد ۳۰۰ به زمان واکنش برای جذب برحسب دقیقه بدست آمد که زمان واکنش برای جذب ۰/۲۳۵ با استفاده از معادله رگرسیونی نمودار میزان جذب به زمان واکنش تعیین گردید(۱).

در این تحقیق داده های حاصل توسط نرم افزار آماری SPSS version ۱۱/۵ و آزمون های تحلیل واریانس یک طرفه و تست تکمیلی دانکن در سطح معنادار $P<0/05$ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

ویژگی های میکروبی

۱- روش شمارش مخمر و قارچ

برای این منظور ۱۰ گرم از سطح هرکدام از نمونه های عسل جدا شد و با ۹۰ میلی لیتر بافر فسفات با pH = ۷ رقت سازی گردید. سپس یک میلی لیتر از رقت های 10^{-1} و 10^{-2} و 10^{-3} از هر نمونه به صورت دوتایی بر روی محیط YGC (مخمر، گلوکز، کلرامفنیکل) به روش پورپلیت دو لایه ای کشت گردید. بدین صورت که به هر یک از دو پلیت حدود ۱۵ میلی لیتر از محیط کشت با دمای ۴۵ درجه سانتی گراد افزوده و کاملاً مخلوط شد و پس از جامد شدن محیط، حدود ۵ تا ۱۰ میلی لیتر دیگر از محیط کشت به عنوان لایه رویی داخل پلیت ها ریخته شد و به طور وارونه برای ۷ روز در انکوباتور ۳۰ درجه سانتی گراد گرمخانه گذاری شد. بعد از پایان مدت گرمخانه گذاری تمام کلنی های موجود در پلیت ها را با استفاده از کلنی شمار، شمارش کرده سپس با در نظر گرفتن ضریب رقت و حجم آزمونه تعداد مخمرهای اسموفیلیک موجود در یک گرم از نمونه محاسبه گردید(۱۱،۱).

۲- جداسازی سلول های رویان کلستریدیوم های احیاکننده سولفیت

برای جدا سازی کلستریودیوم های احیاکننده سولفیت از محیط انتخابی SPS agar (سدیم سولفیت- پلی میکسین – سولفادیازین) استفاده شد. ۲۰ گرم از نمونه های عسل با ۱۸۰ میلی لیتر آب پپتونه ۱ درصد مخلوط و رقیق سازی شد سپس به صورت پورپلیت روی محیط کشت داده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت در جار بی هوازی در کنار گاز پک نوع A نگهداری گردید. کلنی های سیاه نشان دهنده باکتری های بیهوازی احیاءکنندهٔ سولفیت می باشند(۱۱، ۱)

۳- جداسازی اسپور کلستریدیوم های احیاکننده سولفیت

تمام نمونه های رقیق سازی شده برای جداسازی سلول های رویش به مدت ۲۰ دقیقه تحت حرارت ۸۰ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم قرار گرفتند و بعد از این مدت در محیط SPS agar به صورت پورپلیت دو لایه ای کشت داده شده و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت به صورت بی هوازی در جار قرار گرفتند (۱۱، ۱).

نتایج و بحث

ویژگی های فیزیکی و شیمیایی

جدول ۱ میانگین و انحراف معیار ویژگی های فیزیکی و شیمیایی انواع عسل را شامل خاکستر، اسیدیته آزاد و pH، مقدار رطوبت، میزان HMF و فعالیت دیاستاز، درصد قندهای فروکتوز، گلوکز و ساکارز را نشان می دهد. میزان رطوبت حداکثر ۱۸/۶۶ درصد در نمونه گون بود که با توجه به استاندارد ملی ایران برای رطوبت که حداکثر ۲۰ درصد تعیین شده است، تمامی نمونه ها دارای مقادیر رطوبت مناسب بودند. البته میزان رطوبت دامنه ای از ۱۵/۶۴ تا ۱۸/۶۶ درصد داشت که این به علت فصل، مقدار

رطوبت هوا، سن زنبور عسل، فاکتورهای آب و هوایی می باشد. مقادیر بالای رطوبت در عسل سبب ایجاد شرایط تخمیر و فساد و در نتیجه کاهش کیفیت و عطر و طعم عسل می شود. بنابراین میزان رطوبت در سرعت فرایند تخمیر عسل نقش دارد(۱). اسیدیته آزاد در عسل به علت وجود اسیدهای آلی مثل اسید سیتریک، اسیدگلوکونیک، اسید استیک، اسید لاکتیک، اسید بوتیریک است. در تمام نمونه ها میزان اسیدیته کمتر از حداکثر مجاز استاندارد عسل ایران یعنی ۴۰ میلی اکی والان در کیلوگرم بود. که این نتایج نشان می دهد که در این نمونه ها تخمیر ناخواسته در اثر رطوبت بالا که سبب افزایش اسیدیته می گردد، اتفاق نیفتاده است (۱، ۵). به خاطر تأثیر pH بر روی بافت و قوام عسل در طی استخراج و نگهداری، اندازه گیری آن دارای اهمیت می باشد. البته pH عسل مستقیماً به اسیدیته آزاد آن مربوط نمی شود چون عمل بافری برخی از اجزای عسل مثل مواد معدنی و استرها تا حدی سبب کنترل pH در عسل می گردند. pH در تمامی نمونه ها در این تحقیق در محدوده طبیعی و بالای حداقل استاندارد ایران (۳/۵) قرار داشت (۱، ۱۶، ۱۹).

میزان خاکستر به طور طبیعی در عسل پایین و مطابق استاندارد ایران حداکثر ۰/۶ گرم درصد می باشد. مقدار این فاکتور به مواد جمع آوری شده توسط زنبور عسل بستگی دارد. تنها در نمونه عسل گشنیز متوسط میزان خاکستر بالاتر از حد استاندارد بود که در سال ۱۳۸۷ قیصری و حمیدیان هم ۶ مورد را بالاتر از حد استاندارد گزارش کرده بود و یکی از علل آن را عدم تصفیه صحیح عسل و ناخالصی های احتمالی موم باقی مانده حین عسل گیری بیان کردند و خاطر نشان کردند که تنها به این علت نمی توان یقین به تقلبی بودن عسل کرد. همچنین Finola در ۲۰۰۷ بیان نمود که مقدار خاکستر عسل عمدتاً به نوع گیاهی که زنبور از آن استفاده می کند، بستگی دارد ولی شیوه پرورش زنبور عسل و روش عسل گیری توسط زنبوردار نیز در آن موثر است. قندهای احیاءکننده در تمام نمونه ها از حداقل استاندارد ایران (۶۵ درصد) بالاتر بود. اندازه گیری میزان قندهای احیاءکننده در تشخیص عسل طبیعی از

جدول ۱- میانگین ویژگی های فیزیکوشیمیایی عسل های با منشاء گیاهی مختلف در استان اصفهان(میانگین ± انحراف معیار)

نوع عسل	pH	HMF (mg/kg)	دیاستاز (گرم/گونه)	قند کل (۱۰۰/g)	خاکستر (۱۰۰/g)	رطوبت (٪)	اسیدیته آزاد (meq/kg)	فروکتوز (۱۰۰/g)	ساکارز (۱۰۰/g)	گلوکز (۱۰۰/g)
گون	۴/۰۶ ± ۰/۱۰ ^{a}	۳۱/۲۹ ±۱۲/۹۳ ^{bc}	۱۵/۳۵± ۱/۶۱ ^{b}	۶۷/۸۶ ± ۱/۰۶ ^{ab}	۰/۴۶ ±۰/۲۴	۱۸/۶۶ ±۰/۲۰ ^{c}	۱۶/۲۵±۱/۱۵ ^{c}	۳۷/۴۲ ± ۲/۴۹ ^{abc}	۴/۰±۰/۴۳ ^{b}	۳۰/۴۴±۲/۲۶ ^{b}
یونجه	۴/۰۴ ± ۰/۱۲ ^{a}	۱۷/۷۸ ± ۵/۸۰ ^{ab}	۱۰/۶۷ ± ۳/۱۹ ^{a}	۶۷/۵۰ ±۱/۱۱ ^{ab}	۰/۴۵±۰/۱۷	۱۵/۹۳ ± ۰/۸۰ ^{ab}	۱۴/۱۶ ±۱/۲۶ ^{bc}	۴۰/۸۴±۱/۶۹ ^{c}	۴/۳۷± ۱/۲۷ ^{b}	۲۶/۶۶±۱/۱۴ ^{a}
گرانگبین	۴/۰۶ ± ۰/۱۵ ^{a}	۲۷/۳۶± ۵/۶۹ ^{bc}	۱۶/۷۵ ± ۲/۷۸ ^{b}	۶۹/۷۶± ۲/۸۸ ^{b}	۰/۳۴ ± ۰/۱۹	۱۶/۵۷ ± ۰/۶۰ ^{b}	۱۷/۲۵ ± ۱/۴۳ ^{cd}	۳۶/۳۳ ± ۲/۰۲ ^{ab}	۴/۲۶± ۱/۷۹ ^{b}	۳۳/۴۲ ±۱/۱۴ ^{c}
کنار	۵/۴۵ ± ۰/۱۱ ^{d}	۲۶/۳۰ ± ۱/۲۷ ^{c}	۱۶/۵۳ ± ۱/۱۶ ^{b}	۶۹/۴۸ ± ۰/۸۶ ^{b}	۰/۴۱ ± ۰/۲۴	۱۶/۳۰ ± ۰/۹۳ ^{ab}	۱۳/۲۰ ± ۲/۷۴ ^{ab}	۴۴ ± ۲/۳۷ ^{c}	۴/۷۸ ± ۱/۲۴ ^{b}	۲۵/۴۷±۱/۸۴ ^{a}
سیاه دانه	۴/۱۷ ±۰/۰۵ ^{a}	۲۵/۴۲ ± ۲/۳۰ ^{bc}	۱۷/۷۵ ± ۱/۷۳ ^{b}	۷۰/۵۳ ± ۳/۹۶ ^{ab}	۰/۳۸ ± ۰/۲۰	۱۶/۳۰ ± ۰/۶۷ ^{ab}	۲۲/۶۰ ± ۰/۲۰ ^{e}	۳۹/۸۰ ± ۰/۵۸ ^{c}	۴/۲۶ ± ۱/۲۹ ^{b}	۳۰/۷۱± ۴/۲۶ ^{a}
شبدر	۴/۲۰ ± ۰/۰۷ ^{ab}	۱۴/۸۵ ± ۳/۶۴ ^{ab}	۱۵/۹۲ ± ۱/۰۶ ^{b}	۶۶/۳۳ ± ۰/۴۰ ^{a}	۰/۳۹ ± ۰/۲۱	۱۶/۵۷ ± ۰/۳۵ ^{b}	۱۳/۵۰ ± ۱/۵۲ ^{b}	۳۵/۵۱± ۰/۷۴ ^{a}	۴/۷۱ ± ۱/۸۳ ^{ab}	۳۰/۷۲± ۱/۱۵ ^{b}
شوید	۴/۲۶ ± ۰/۰۷ ^{ab}	۹/۱۶ ± ۵/۰۳ ^{a}	۱۹/۳۱ ± ۵/۲۳ ^{bc}	۷۱/۱۶ ± ۰/۴۷ ^{b}	۰/۵۵ ± ۰/۱۸	۱۷/۵۸ ± ۰/۸۱ ^{bc}	۲۴/۸۵± ۰/۴۹ ^{f}	۴۰/۵۴± ۱/۲۷ ^{c}	۵/۴۳ ± ۰/۹۶ ^{b}	۳۰/۶۲± ۱/۷۳ ^{b}
چند گیاه	۴/۰۵ ± ۰/۱۰ ^{a}	۱۵/۱۶ ± ۱/۶۴ ^{ab}	۱۶/۵۳ ± ۱/۷۳ ^{b}	۶۶/۵۲ ± ۰/۳۰ ^{a}	۰/۴۸ ± ۰/۲۲	۱۷/۲۰ ± ۱/۷۰ ^{abc}	۱۹/۷۵± ۱/۴۳ ^{d}	۳۸/۳۷± ۱/۷۸ ^{bc}	۴/۲۵± ۰/۹۸ ^{ab}	۲۸/۱۴± ۰/۹۶ ^{a}
گون- یونجه	۳/۹۹ ± ۰/۱۲ ^{a}	۱۹/۸±۱۳/۴ ^{b}	۱۱/۳۱ ± ۱/۶۴ ^{a}	۷۱/۲۷ ± ۴/۶۱ ^{ab}	۰/۳۳ ± ۰/۱۵	۱۵/۶۴ ± ۰/۱۹ ^{a}	۲۰/۵۰ ± ۲/۵۴ ^{de}	۴۰/۰۷± ۱/۵۹ ^{bc}	۴/۵۶± ۱/۰۶ ^{b}	۳۱/۱۹± ۶/۲۱ ^{abc}
گون- گشنیز	۴/۳۵± ۰/۸۰ ^{b}	۱۷/۹۶ ± ۷/۴۳ ^{ab}	۱۶/۰۹ ± ۴/۰۵ ^{b}	۶۸/۹۲ ± ۰/۸۸ ^{b}	۰/۵۹ ± ۰/۳۹	۱۸/۰۲ ± ۰/۰۴ ^{c}	۲۰ ± ۲/۵۱ ^{de}	۳۷/۳۹± ۰/۶۳ ^{b}	۳/۲۵± ۰/۱۴ ^{a}	۳۱/۵۳± ۱/۵۱ ^{bc}
گشنیز	۴/۷۵± ۰/۱۳ ^{c}	۱۲/۱۶±۹/۲۶ ^{ab}	۱۹/۸۴ ± ۱/۱۷ ^{c}	۷۰/۲۸ ± ۳/۶۴ ^{ab}	۰/۶۵ ± ۰/۱۵	۱۶/۹۰ ± ۰/۱۴ ^{b}	۱۰/۵۰ ± ۰/۷۱ ^{a}	۳۶/۰۴± ۱/۱۰ ^{ab}	۵/۲۱± ۱/۸۱ ^{ab}	۳۴/۲۴± ۲/۵۴ ^{bc}

عسلک بسیار مفید است(۱، ۳، ۱۱).

مقدار HMF و فعالیت دیاستازی در عسل دو فاکتور مهم برای مشخص کردن تازگی و یا کهنگی عسل و یا تقلب در آن می باشند. در اثر واکنش قندها در حرارت بالا مقادیری HMF در عسل ایجاد می گردد که می تواند سبب ایجاد اثرات نا مناسب در سلامت انسان گردد. میزان HMF در عسل تازه باید منفی یا حداقل باشد. البته منبع شهد زنبور عسل، pH عسل، اجزای عسل، استفاده از قند تجاری و شرایط نگهداری عسل نیز در مقدار HMF تأثیر دارد بنابراین این فاکتور به تنهایی نمی تواند کیفیت عسل را نشان دهد. آنزیم دیاستاز نیز مانند همه آنزیم ها در شرایط مناسب فعال باقی می ماند. اگر عسل طولانی مدت نگهداری شود، دمای محل نگهداری عسل بالا باشد و یا در طی فرآوری عسل آن را تحت حرارت بالا قرار دهند، آنزیم دیاستاز موجود در آن غیر فعال می شود. بنابراین برای حفظ کیفیت و خواص عسل شرایط و دمای نگهداری و همچنین مدت زمان نگهداری عسل بسیار مهم می باشد(۶، ۱۱، ۲۱). نتایج این دو آزمایش نشان داد که عسل های موجود همگی پس از تولید تحت شرایط مناسبی نگهداری شده بودند و فرایندهای حرارتی احتمالی به منظور پیش گیری از کریستال شدن عسل و از بین بردن میکروارگانیسم ها از زمان و دمای مناسبی برخوردار بوده است. حداکثر میزان HMF در نمونه ها ۳۱/۲۹ میلی گرم در کیلوگرم در عسل گون گزارش شده که در مقایسه با میزان استاندارد آن یعنی ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم مناسب می باشد. در ۹ مورد از نمونه ها میزان ساکارز بیشتر از حد مجاز استاندارد ملی ۵ گرم در صد بود که می تواند نشان دهنده تقلب و تغذیه دستی زنبور عسل با شکر و یا مخلوط کردن عسل حرارت دیده با شکر باشد و میزان تقلب در این عسل ها بر این اساس ۲۰/۴۵ درصد گزارش گردید. البته بعد از مقایسه مقادیر قند ساکارز در عسل طبیعی و تقلبی توسط Guler و همکاران درسال ۲۰۰۷ بیان شد که اندازه گیری این فاکتور در عسل معیار دقیقی برای جداسازی عسل تقلبی نمی باشد. چون به علت تولید آنزیم اینورتاز توسط زنبوران کارگر مقداری از ساکارز می تواند به گلوکز و فروکتوز تبدیل شود و عسلی که با تغذیهٔ بیش از حد زنبور با شیره شکر تولید شده بود حاوی مقادیر ساکارز کمتر از حداکثر مجاز استاندارد بود(۱۴).

ویژگی های میکروبی

شمارش مخمر و کپک در تمام نمونه ها مطابق استاندارد ایران در حد مجازکمتر از cfu/gr ۱۰۰ بود و در اکثر نمونه ها تعداد آنها زیر cfu/gr ۱۰گزارش شدکه نشان دهنده کیفیت مناسب میکروبی این عسل ها می باشد، البته پایین بودن اسیدیته در نمونه های عسل سبب تعداد اندک این میکروارگانیسم ها در عسل نیز می شود.کلستریدیوم های احیاکننده سولفیت در تمام نمونه ها منفی بودند که این نشان دهنده مدیریت بهداشتی صحیح در فرآوری عسل در این استان می باشد و نتایج این تحقیق با گزارشات Gomez و همکاران در ۲۰۰۹ مشابه بود (۱۲،۱۱). ویژگی های فیزیکی و شیمیایی عسل به شرایط آب و هوایی، پوشش گیاهی، روش تولید و فرآوری و نگهداری عسل بستگی دارد. البته استفاده بیش از حد از ترکیبات دارویی، تغذیه زنبورها به وسیله شکر بویژه در فصل تولید عسل، شرایط نگهداری غیر بهداشتی و نامناسب عسل، نگهداری عسل برای مدت طولانی از جمله عواملی می باشد که سبب کاهش کیفیت عسل و افزایش فلزات سنگین در عسل تولیدی می گردد. در این مطالعه اثر نوع پوشش گیاهی برکیفیت عسل منطقه هم بررسی گردید و نتایج نشان داد که در عسل کنار نسبت فروکتوز به گلوکز بالاتر می باشد که بر این اساس می توان گفت به علت حلالیت بیشتر قند فروکتوز نسبت به گلوکز، این عسل دیرتر شکرک می زند. کمترین میزان رطوبت در نمونه گون-یونجه دیده شد که می تواند این عامل سبب تاخیر در فرایند تخمیر شود. در عسل شوید کمترین میزان HMF و در عسل گشنیز و گون-یونجه به ترتیب کمترین میزان اسیدیته و pH گزارش گردید. عسل گون-یونجه بالاترین و عسل شبدر کمترین مقادیر قند را دارا بودند که این فاکتور می تواند از نظر سلامت افراد مورد توجه قرار گیرد. Anupama و همکاران در ۲۰۰۳ در عسل کشور هند مقادیر رطوبت،pH، قندهای احیاءکننده و میزان ساکارز را حداکثر به ترتیب ۲۲/۶ درصد،۴، ۷۲/۶ درصد و ۵/۷ درصد گزارش کردند که بر اساس این اطلاعات میزان رطوبت و ساکارز مقداری بالاتر از حد استاندارد بود. در یک نمونه مقدار قندهای احیاءکننده کمتر از ۶۵ درصد گزارش گردید(۷). Serrano و همکاران در ۲۰۰۴ میانگین گلوکز را ۲۶/۹۲ درصد، فروکتوز ۳۳/۹۸ درصد، ساکارز ۳/۶۷ درصد، قند کل ۸۱/۹۶ درصد، HMF را ۱۳/۶۷ میلیگرم در کیلوگرم، رطوبت ۱۶/۵۹ درصد، اسیدیته آزاد ۲۲/۴۹ میلی اکی والان گرم و pH را ۴/۰۷ در جنوب اسپانیا گزارش کردند که همگی در حد مطلوب بود(۱۸).

در مطالعه DeRodriguez و همکاران در سال ۲۰۰۴ دو نمونه از هشت نمونه درصد رطوبت بالای ۲۰ درصد و اسیدیته بالای ۴۰ میلی اکی والان گرم را داشتند که رطوبت بالا سبب تخمیر نامطلوب و افزایش اسیدیته شده بود. یک نمونه، ساکارز بیش از ۵ درصد داشت و میزان HMF در دامنه طبیعی بود(۹).

Karaman و Kayacier (۲۰۰۷) روی چهار نمونه عسل در ترکیه میزان pH را ۳/۶۷ تا ۴/۵۷، رطوبت ۳/۱۶ تا ۱۷/۹درصد، خاکستر۰/۱۱۲ تا ۰/۵۱۹ در صد، فعالیت آبی ۰/۵۱ تا ۰/۵۲ و ویسکوزیته را ۲/۸ تا ۱۰/۱ پاسکال گزارش کردند (۱۵).

در سال ۲۰۰۹ Gomes و همکاران ویژگی های فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژی عسل را در برخی مناطق پرتقال بررسی کردند. این مشخصات همه در حد طبیعی بودند فقط میزان HMF در دو نمونه حدود ۹۴ و ۷۶ میلی گرم در کیلوگرم بود که علت این مقدار بالا شرایط نامناسب نگهداری عسل و دمای بالا ذکر شد. درصد ساکارز هم بالای ۵ درصد در سه نمونه دیده شد. ولی کیفیت میکروبی آنها کمتر از استاندارد و خوب گزارش گردید یعنی میزان سالمونلا و کلستریدیوم احیاکننده سولفیت در نمونه ها منفی و کلی فرم مدفوعی کمتر از یک و تعداد مخمر و کپک حداکثر ۲۲ کلنی گزارش گردید همچنین اثر ضد میکروبی عسل روی برخی از انواع مخمرها موفقیت آمیز بود(۱۲). در مطالعه جاهد وکامکار (۱۳۸۲) میانگین درصد خاکستر، اسیدیته، pH به ترتیب ۰/۲۸ درصد، ۴/۵۴ میلی اکی والان گرم ،۱۶/۳۳ بود. بر اساس نتایج بدست آمده بیان شد کیفیت عسل تولیدی توسط زنبوردار بستگی به میزان رطوبت، میزان خاکستر، وزن مخصوص، مواد جامد،

pH موجود در عسل و اسیدیته دارد. به همین جهت استانداردهایی توسط کشورهای مختلف ارایه شده است که عسل بایستی آن ویژگی ها را داشته باشد(۴).

در مطالعه دیگری در سال ۱۳۸۳ در شهرکرد، بنی طالبی، حسینی و بنی طالبی میزان رطوبت در ۲۰ نمونه عسل را ۱۴/۲ تا ۱۶/۱۸ درصد گزارش کردند و آزمایش دیاستاز و قند تجاری به ترتیب در دو و شش مورد مثبت گزارش گردید(۲). در مطالعه قیصری و حمیدیان (۱۳۸۷) میزان رطوبت، اسیدیته و HMF در نمونه های عسل شهرستان شیراز کمتر و مقدارخاکستر و قند کل بیشتر از مقادیر مشابه در این تحقیق به دست آمد(۳).

بر اساس این تحقیق ومقایسه آن با بررسی های مشابه می توان بیان نمود که عسل استان اصفهان از کیفیت مناسبی به لحاظ فیزیکوشیمیایی و میکروبی برخوردار است که می تواند نتیجه بهبود تکنیک های مدیریتی و پرورش زنبور عسل در سال های اخیر باشد.

انواع مختلف عسل با توجه به منشا گیاهی در این منطقه تولید می شود که هر کدام علاوه بر داشتن خواص درمانی دارای ویژگی های مخصوص به خود نیز می باشند که به هنگام انتخاب عسل می تواند مورد توجه قرار گیرد. عسل این استان در صورت عدم تقلب و مدیریت صحیح و علمی می تواند قابل مقایسه با استاندارد جهانی نیز باشد.

و در نهایت با تولید عسل مرغوب و تایید آن به وسیله این آزمون ها می توان به افزایش اعتماد عمومی و بالا رفتن میزان مصرف سرانه این محصول در کشور رسید.

پاورقی ها

1- Penicillium, mulor

2- Saccaromyces, Torula

منابع مورد استفاده

۱- استاندارد ملی ایران شماره ۹۲ (۱۳۸۳) عسل- ویژگی ها و روش های آزمون)تجدید نظر ششم.

۲- بنی طالبی، ا.، حسینی س.ش. و بنی طالبی. ا. (۱۳۸۳) بررسی آزمایشگاهی تقلبات در عسل های عرضه شده در شهرستان شهرکرد، همایش کشوری بهداشت و ایمنی غذا، یزد، کتابچه خلاصه مقالات، ص ۱۷۰

۳- قیصری، ح. و حمیدیان شیرازی. ا. (۱۳۸۷) مقایسه و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تقلبات عسل های منطقه شیراز تولید شده در فصول مختلف، مجله پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران ۴ :۵۷ -۶۹

۴- جاهد خانیکی، غ. و کامکار. ا. (۱۳۸۴) بررسی خواص فیزیکوشیمیایی عسل تولیدی شهر گرمسار در سال ۱۳۸۲، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ایران دورهٔ ۱، ۴ :۳۵-۴۱

۵- عبادی، ر.، و احمدی. ع. (۱۳۸۳) پرورش زنبور عسل. انتشارات اردکان، اصفهان.

6- Ajlouni, S., and Sujirapinyokul, P. (2010) Hydroxy methyl furfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chemistry*. Vol, 119, pp: 1000–1005.

7- Anupama, D., Bhat, K.K. and V.K. Sapna. (2003) Sensory and physico-chemical properties of commercial samples of honey. *Food Research International*. Vol, 36, pp: 183–191.

8- Blasa, M., Candiracci, M. Accorsi, A. Piacentini, M.P. Albertini, M.C. and Piatti, E. (2006) Raw millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*. Vol, 97, pp: 217–222.

9- DeRodriguez, G.O., DeFerrerFerrer, B.S.A. and Rodriguez, B. (2004) Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*. Vol, 84,pp: 499–502.

10- Ferreira, I.C.F.R., Aires, E. Barreira, J.C.M. and Estevinho, L.M. (2009) Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*. Vol, 114, pp: 1438–1443.

11- Finola, M.S., Lasagno, M.C. and Marioli, J.M. (2007) Microbiological and chemical characterization of honey from central Argentina. *Food chemistry*. Vol, 100, pp:1649-1653.

12- Gomes, S., Dias, L.G. Moreira, L.L. Rodrigues P. and Estevinho. L. (2009) Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*.

13- Guerrini, A., Bruni, R. Maietti, S. Poli, F. Rossi, D. Paganetto, G. Muzzoli, M. Scalvenzi, L. and Sacchetti, G. (2009) Ecuadorian stingless bee (Meliponinae) honey: A chemical and functional profile of an ancient health product. *Food Chemistry*. Vol, 114, pp:1413–1420.

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

15- Kayacier, A., and Karaman, S. (2007) Rhological and some physicochemical characteristics of selected Turkish honeys. *Journal of Texture Studies*, Vol, 39, pp: 17-27.

16- Nanda, V., Sarkar, B.C. Sharma, H.K. and Bawa, A.S. (2003) Physico-chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in Northern India. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol, 16, pp: 613–619.

17- Mussatto, S.I., and Mancilha, I.M. (2007) Non-digestible oligosaccharides: A review. *Carbohydrate Polymers*. Vol, 68, pp: 587–597.

18- Serrano, S., Villarejo, M. Espejo, R. and Jodral, M. (2004) Chemical and physical parameters of Andalusian honey: classification of Citrus and Eucalyptus honeys by discriminant analysis. *Food Chemistry,* Vol, 87, pp: 619–625.

19- Terraba, A., Diez, M.J. and Heredia, F.J. (2002)

Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*. Vol, 79, pp: 373–379.

20- White, J.W.Jr. (1979) Methods for determining carbohydrates, hydroxyl methyl furfural and proline in honey: Collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists*. Vol, 62, pp: 509–514.

21- White, J.W.Jr. (1994) The role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. *Bee World*. Vol, 75, No, 3, pp: 104–117.