13 (2) 413-420, Summer 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Evaluation of Physicochemical Properties and Antioxidant Activity of Honey in Different Geographical Regions of Iran

Abolfazl Kamkar, Fatemeh Gheitanchi *, Hessameddin Akbarein

Department of Food Hygiene and Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Key Words

Honey
physicochemical properties
Antioxidant activity
Phenolic content
Geographical regions

Abstract

Introduction: Honey is a natural sweet substance which the physico-chemical properties and antioxidants of honey are depended to the kinds of plant and flower in each region. Therefore, it is required to know components of each. The main aim of current study was to investigate the physiochemical and antioxidant properties of 32 different samples from different regions (South, central, North and Northwestern) of Iran.

Materials & Methods: Thus, physiochemical tests such as moisture content, pH, acidity, Ash content, reducing sugar before hydrolysis, sucrose, HMF on honey samples were done. Also the total amount of phenolic compounds using Folin-Ciocalteu reagent and antioxidant activity was evaluated by DPPH method. The collected data were coded and analyzed through SPSS by applying one-way ANOVA. The results depicted significant ($P<0.05$).

Result: The obtained range values of each test is as follows: The range of pH was 4.06-4.39, acidity 8-20 mEq/kg, moisture 14.9-18.8%, ash 0.2-0.6%, HMF 4.49-17.55 mg/kg, reduced sugar 71.42-80.88%, sucrose 1.7-4.88%, DPPH 32.37-74.77% and phenolic content was 12.69-54.66 mg/100g.

Conclusion: We found significant differences ($P < 0.05$) in pH, acidity, moisture, ash, HMF, DPPH and phenolic content between different regions of producing honey but not with sucrose and reduced sugar. Our results are consistent with previous findings and CODEX standards.

* Corresponding Author's email: f_gheitanchi@ut.ac.ir

Received: 5 April 2020; Reviewed: 17 May 2020; Revised: 13 July 2020; Accepted: 18 August 2020
(DOI): 10.22034/aej.2021.139033

مقاله پژوهشی

ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تعدادی از نمونه‌های عسل مناطق جغرافیایی مختلف ایران (فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خواص فیزیکوشیمیایی عسل)

ابوالفضل کامکار، فاطمه قیطانچی، حسام‌الدین اکبرین*

گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

کلمات کلیدی

عسل
خصوصیات فیزیکوشیمیایی
فعالیت آنتی اکسیدانی
ترکیبات فنولیک
مناطق جغرافیایی

چکیده

مقدمه: خصوصیات فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدان‌های عسل به پوشش گیاهی مورد استفاده زنبور و انواع گیاهان هر منطقه بستگی دارد. هدف اصلی مطالعه حاضر بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی عسل مناطق جغرافیایی مختلف ایران و مقایسه بین آن‌ها است.

مواد و روش‌ها: بدین منظور مطالعه‌ای توصیفی-کاربردی توسط آزمایشات فیزیکوشیمیایی: رطوبت، pH، اسیدیته، میزان خاکستر، قند احیاکننده قبل از هیدرولیز، ساکارز، HMF بر روی ۳۲ نمونه عسل مناطق جغرافیایی مختلف (نواحی جنوب، مرکز، شمال و شمال‌غربی) ایران انجام شد. مقدار ترکیبات فنولیک با استفاده از معرف Folin-Ciocalteu و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با روشDPPH مورد بررسی قرار گرفت. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماریSPSS و تست تکمیلی one-way ANOVA تجزیه و تحلیل شدند که سطح معنی‌داری ۰/۰۵ درنظر گرفته می‌شود.

نتایج: مقادیر دامنه به‌دست آمده از هر آزمون به‌شرح زیر است: دامنه pH برابر با ٤/٠٦ تا ٤/٣٩، اسیدیته ۸ تا ۲۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم، رطوبت ١٤/٩ تا ١٨/٨ درصد، خاکستر ۰/۲ تا ۰/٦ درصد، میزان HMF ٤/٤٩ تا ١٧/٥٥ میلی‌گرم در کیلوگرم، DPPH ٣٢/٣٧ تا ٧٤/٧٧ درصد و محتوای فنولیک ١٢/٦٩ تا ٥٤/٦٦ میلی‌گرم در ١٠٠ گرم بود. (P<۰/۰۵). دامنه قند احیاکننده ٧١/٤٢ تا ٨٠/٨٨ درصد، ساکارز ١/٧ تا ٤/٨٨ درصد بود (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری و بحث: از نظر pH، اسیدیته، رطوبت، خاکستر، میزان هیدروکسی متیل فورفورال، DPPH و میزان فنل بین مناطق مختلف تولید عسل تفاوت معنی‌داری وجود داشت. هیچ تفاوت معنی‌داری بین محتوای ساکارز و قند قبل از هیدرولیز نمونه‌های عسل‌های مناطق مختلف وجود ندارد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: f_gheitanchi@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۷ فروردین ۱۳۹۹؛ تاریخ داوری: ۲۸ اردیبهشت ۱۳۹۹؛ تاریخ اصلاح: ۲۳ تیر ۱۳۹۹؛ تاریخ پذیرش: ۲۸ مرداد ۱۳۹۹
(DOI): 10.22034/aej.2021.139033

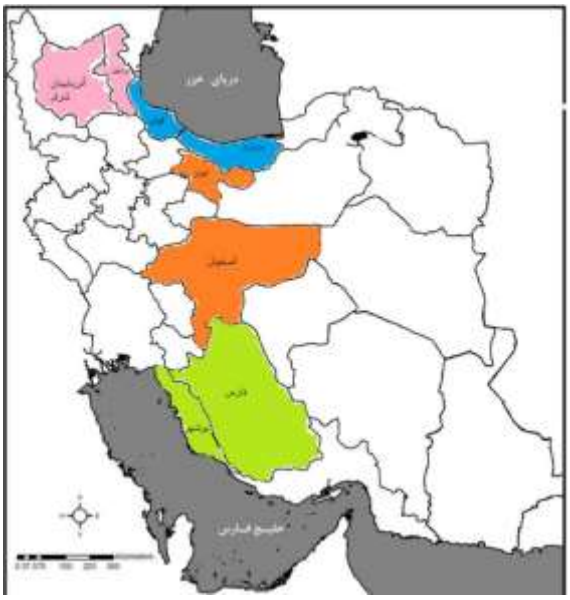
مقدمه

عسل ماده طبیعی شیرینی است که زنبور عسل آن را از شهد گل‌ها، تراوشات و شیره گیاهان جمع‌آوری می‌کند. زنبورها با خرطوم خود شهد موجود در گل ها را می‌مکند و در قسمت ویژه شکم خود که به آن معده عسل می‌گویند، ذخیره می‌کنند. پس از اضافه کردن آنزیم‌های مختلف که باعث تجزیه مولکول‌های قند پیچیده موجود در شهد گیاهان به گلوکز و فروکتوز می‌شود (تمام این فرآیند تجزیه در راه بازگشت به کندو کامل می‌شود) و فرآوری و تبخیر رطوبت اضافی، آن را در کندو ذخیره می‌سازند. عسل به‌علت داشتن اجزای تشکیل‌دهنده مفید می‌تواند علاوه بر داشتن ارزش تغذیه‌ای بالا، سبب حفظ سلامت انسان و درمان برخی از اختلالات و بیماری‌ها گردد (Lakzade و همکاران، ۲۰۱۳؛ Mahmoudi و همکاران، ۲۰۱۶). این محصول به‌عنوان یک ماده غذایی پر انرژی و مغذی از دیرباز مورد توجه و علاقه انسان بوده است. علاوه بر خواص تغذیه‌ای، عسل خواص دیگری مثل خواص ضدمیکروبی دارد. اثر درمانی این ماده در درمان بیماری‌های قلبی، تقویت سیستم ایمنی بدن، درمان بیماری‌های گوارشی، بهبود زخم‌ها، درمان بیماری‌های چشم، درمان آرتریت، دیابت و بسیاری از اختلالات دیگر به اثبات رسیده است (Samarghandian و همکاران، ۲۰۱۷؛ Mohammadzadeh و همکاران، ۲۰۱۶؛ Mahmoudi و همکاران، ۲۰۱۴). عسل حاوی حداقل ۱۸۱ ترکیب است. از نظر شیمیایی عسل شامل قند (۸۰-۷۰٪)، آب (۱۰-۲۰٪) و سایر اجزای جزئی مانند اسیدهای آلی، نمک‌های معدنی، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها، ترکیبات فنولی و اسیدهای آمینه آزاد است (Ouchemoukh و همکاران، ۲۰۰۷؛ Mahmoudi و همکاران، ۲۰۱۵). ترکیب عسل نسبتاً متفاوت است و در درجه اول بستگی به منبع گل دارد. با این‌حال برخی از عوامل خارجی مانند عوامل فصلی و زیست محیطی و نحوه فرآوری عسل نیز دخیل هستند. در سال‌های اخیر بیش از ۲۰۰ ترکیب در عسل شناسایی شده است (Ahmed و همکاران، ۲۰۱۴؛ Bertoncelj و همکاران، ۲۰۰۷). عسل یک محلول فوق اشباع قندی است که فروکتوز و گلوکز مواد اصلی تشکیل‌دهنده آن می‌باشند. عسل هم‌چنین حاوی مواد معدنی، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه آزاد، آنزیم‌ها و ویتامین‌ها می‌باشد (Mohammadzadeh و همکاران، ۲۰۱۶). دامنه گسترده‌ای از ترکیبات جزئی نیز در عسل وجود دارد که بسیاری از آن‌ها دارای خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشند. این ترکیبات شامل اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها، برخی آنزیم‌ها (گلوکز اکسیداز، کاتالاز) و اسیدهای آمینه است (Alzahrani و همکاران، ۲۰۱۲). برخی از این ترکیبات از شهد یا گرده وارد عسل شده و بقیه‌ها آن توسط زنبور در طول فرآیند تولید عسل تشکیل می‌شوند (Boussaid و همکاران، ۲۰۱۸). آنتی‌اکسیدان‌ها که از فعال‌ترین ترکیبات فیزیولوژیکی در عسل می‌باشند، در حفاظت از موجودات زنده در برابر آسیب اکسیداتیو نقش مهمی دارند و از بروز انواع بیماری‌های مزمن مانند سرطان، بیماری‌های قلب و عروق و دیابت جلوگیری می‌کنند. عسل دارای انواع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی شامل گلوکز اکسیداز، کاتالاز، L-آسکوربیک اسید، فلاونوئیدها، اسیدهای فنولیک، کارتنوئیدها، اسیدهای آلی، آمینواسیدها و پروتئین‌ها می‌باشد (Ferreira و همکاران، ۲۰۰۹). پلی‌فنول‌ها گروه مهم دیگری از ترکیبات موثر در خواص ظاهری و عملکردی عسل هستند. اگرچه مطالعات بر روی عسل، زنبورعسل و ترکیبات اصلی عسل حدود صد سال پیش شروع شده است اما در سال‌های اخیر توجه به ترکیبات فنولیک عسل افزایش یافته است و علت آن نقش بالقوه این ترکیبات به‌عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی برای تصدیق منشا جغرافیایی و خواص آنتی‌اکسیدانی عسل می‌باشد (Alzahrani و همکاران، ۲۰۱۲؛ Mohebodini و همکاران، ۲۰۱۹). این ترکیبات از واکنش‌های اتواکسیداسیون جلوگیری کرده و اثر مهارکنندگی روی رادیکال‌های آزاد با مکانیسم‌های مختلف دارند (Gomes و همکاران، ۲۰۱۰) و مقدار آن‌ها به‌طور گسترده‌ای بسته به منابع گل، فصل و عوامل محیطی متفاوت می‌باشد. منشأ گیاهی عسل بیش‌ترین تأثیر را بر روی فعالیت آنتی اکسیدانی آن دارد درحالی‌که فرآوری و نگه‌داری عسل به‌مقدار جزئی در این مورد موثرند (Alvarez-Suarez و همکاران، ۲۰۱۰). کیفیت عسل تحت تأثیر منشا، فصل، فرآوری، منطقه جغرافیایی تولید عسل و پوشش گیاهی آن منطقه است (Alzahrani و همکاران، ۲۰۱۲). Mahmoudi و همکاران (۲۰۱۲) خصوصیات فیزیکوشیمیایی ۲۶۳ نمونه عسل مناطق شمال‌غربی ایران را به تاثیرات فصلی نسبت داده‌اند. Lak zadeh و همکاران (۲۰۱۳) ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی ۴۴ نمونه عسل گیاهی از مناطق مختلف نواحی مرکزی را مقایسه کردند. نتایج نشان داد که نمونه‌ها از کیفیت مطلوبی برخوردار بوده و نوع پوشش گیاهی در خواص عسل مؤثر بوده است. Alzahrani و همکاران (۲۰۱۲) تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های عسل آزمایش شده را به تفاوت در منشاء گیاهی و منطقه جغرافیایی را نسبت دادند. هدف از این مطالعه بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی، محتوای تام فنولیک، pH، رطوبت، اسیدیته، قند احیاکننده، هیدروکسی‌متیل‌فورفورال و خاکستر موجود در نمونه‌های عسل در مناطق مختلف ایران (جنوب، مرکزی، شمال و شمال‌غربی) است. این مناطق ازجمله مناطق بسیار مهم تولید عسل در کشور به‌شمار می‌رود.

مواد و روش‌ها

مواد: در این بررسی تعداد ۳۲ نمونه عسل مناطق مختلف ایران (جنوب: استان فارس و بوشهر، مرکزی: استان اصفهان و تهران، شمال: استان مازندران و گیلان و شمال‌غربی: استان اردبیل و آذربایجان‌شرقی از هر منطقه ۸ نمونه)، (شکل ۱) در فروردین ماه سال ۱۳۹۸ از مراکز

معتبر تولید و توزیع‌کننده در آن منطقه با روش نمونه‌برداری ساده و تصادفی جمع‌آوری شد و در شرایط مطلوب به آزمایشگاه مواد غذایی انتقال داده و تا زمان انجام آزمون‌ها در دمای محیط نگه‌داری شدند.



شکل ۱: مناطق نمونه‌برداری نمونه‌های عسل

آزمایشات فیزیکوشیمیایی عسل

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل در حضور رادیکال

۲ و ۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل: فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل در حضور رادیکال آزاد ۲ و ۲-دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل به‌روش اسپکتروفتومتری انجام می‌گیرد. مقدار ۱/۲۵ سی‌سی از محلول عسل حل شده در آب مقطر با ۱/۵ سی‌سی محلول متانولی DPPH مخلوط و به‌مدت ۹۰ دقیقه در دمای محیط و در تاریکی نگه‌داری می‌شود. سپس جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر متانول-آب ۱:۱ به‌عنوان شاهد قرائت می‌گردد. نمونه کنترل ۱/۲۵ سی‌سی متانول با ۱/۵ سی‌سی محلول متانولی DPPH درنظر گرفته می‌شود. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی به درصد بیان می‌گردد (Ahmed و همکاران، ۲۰۱۴).

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولیک: مقدار کل ترکیبات فنولیک در عسل به‌روش فولین-سیوکالتو مورد بررسی قرار می‌گیرد. پس از افزودن معرف و ترکیبات مورد نیاز مقدار جذب محلول به‌دست آمده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در برابر نمونه شاهد قرائت می‌شود. مقدار کل ترکیبات فنولیک بر مبنای میلی‌گرم معادل اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم عسل بیان می‌گردد (Ferreira و همکاران، ۲۰۰۹).

اندازه‌گیری رطوبت: یک قطره از نمونه عسل را بر روی سطح تمیز و خشک منشور دستگاه رفراکتومتر ریخته و سپس با گذاشتن درپوش دستگاه، حد واسط محدوده آبی و سفید که میزان آب نمونه است قرائت می‌شود (Lak zadeh و همکاران، ۲۰۱۳).

اندازه‌گیری اسیدیته: ۱۰ گرم از نمونه عسل را وزن و در ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر بدون کربن دی اکسید (تازه جوشیده و سرد شده) حل کرده، محلول در مجاورت شناساگر فنول فتالئین (مشاهده رنگ ارغوانی پس از کامل شدن تیتراسیون) و یا با کمک pH متر pH/mV/ meter 86502) (AZ, manufacturer تا رسیدن به pH ۸/۳ با سود یک دهم نرمال تیتر شد. آزمایش شاهد برای آب مقطر و شناساگر انجام گرفته و نتیجه آزمون اسیدیته بر حسب اکی‌والان در کیلوگرم بیان می‌شود (ISIRI 92، ۲۰۰۷).

$$\text{اسیدیته} = 1000 \times N(V - V') / W$$

N: نرمالیته سود مصرفی، V: میلی‌لیتر سود مصرفی، 'V: میلی‌لیتر سود مصرفی شاهد، W: وزن نمونه به گرم

اندازه‌گیری pH: مقداری از عسل(حدود ۱۰ گرم)را در یک بشر وزن و در ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر بدون کربن دی اکسید حل کرده و سپس با کمک دستگاه pH متر که با بافر چهار و هفت کالیبره و pH در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرائت می‌شود (لازم به ذکر است پس از اتمام کار، الکترود دستگاه باید در KCl قرار داده شود)(ISIRI 92، ۲۰۰۷).

اندازه‌گیری خاکستر: یک عدد بوته چینی را به‌خوبی شسته و درون فور و سپس دسیکاتور قرار داده شد. مقدار پنج گرم عسل را درون بوته چینی که از قبل وزن خالی آن محاسبه شده، وزن کرده و سپس به ملایمت روی شعله حرارت داده شد تا جایی که کاملاً سیاه شود. سپس بوته چینی در کوره ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده تا از آن خاکستر سفید حاصل شده و به وزن ثابت برسد. تفاوت وزن بوته خالی و بوته محتوی خاکستر را به وزن نمونه مورد آزمون (پنج گرم) تقسیم و در عدد ۱۰۰ ضرب کرده تا درصد خاکستر (مواد معدنی) به‌دست آید (ISIRI 92، ۲۰۰۷).

اندازه‌گیری قندهای احیا کننده و ساکارز: محلول یک گرم در ۲۵۰ میلی‌لیتر عسل را در بورت ریخته و در زیر بورت، بشر محتوی پنج میلی لیتر فهلینگ A+ پنج میلی لیتر فهلینگ B + دو و نیم میلی لیتر فروسیانور پنج درصد + ۱۰ میلی لیتر آب + چند قطره معرف متیلن بلو قرار داده می‌شود. بشر بر روی شعله گاز دارای توری نسوز با گرمای مناسب قرار داده شده و چند عدد پرل شیشه ای جهت تنظیم جوش اضافه می‌شود. بشر تا زمان جوش، حرارت داده شده و سپس با محلول عسل تا رسیدن به رنگ قرمز آجری تیتر می‌شود (ISIRI 92، ۲۰۰۷):

$$S = \frac{F \times 250 \times 100}{V \times W \times 1000}$$

S: قندهای احیاکننده در ۱۰۰ گرم نمونه عسل، F: عیار فهلینگ، V: میلی‌لیتر مصرفی بورت، W: وزن نمونه عسل

تعیین قندهای احیاکننده بعد از هیدرولیز: ۵۰ میلی‌لیتر از محلول عسل تهیه شده در مرحله قبل را در یک بالن ژوژه دیگر ریخته و سپس دو میلی‌لیتر اسیدکلریدریک غلیظ به آن اضافه کرده و به‌مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شود. (سه دقیقه تکان داده شده و هفت دقیقه ثابت بماند) پس از خروج از حمام آب گرم به کمک معرف فنل فتالئین ابتدا با سود غلیظ و بعد از آن با محلول سود یک دهم نرمال آن را خنثی نموده (رنگ ارغوانی ضعیف)، سپس با آب به حجم ۱۰۰ رسانیده و بورت ۵۰ میلی‌لیتری از این محلول پر شود. مطابق مراحل قبل تیتراسیون انجام می‌شود (ISIRI 92، ۲۰۰۷):

$$S = \frac{F \times 250 \times 100 \times 100}{W \times V \times 50 \times 1000}$$

F: عیار فهلینگ، V: میلی‌لیتر مصرفی بورت، W: وزن نمونه عسل

تعیین درصد ساکارز

برای محاسبه درصد ساکارز اختلاف اعداد به‌دست آمده قندهای قبل و بعد از هیدرولیز، در ضریب ۰/۹۵ ضرب می‌شود (ISIRI 92، ۲۰۰۷).

هیدروکسی متیل فورفورال: پنج گرم نمونه عسل را وزن و با ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل کرده و به بالن ژوژه ۵۰ انتقال داده شود. سپس نیم میلی‌لیتر از هرکدام از محلول‌های شماره یک و دو را به آن افزوده و سپس با آب مقطر به حجم ۵۰ رسانده شود. محلول را به وسیله کاغذ صافی، صاف نموده و ۱۰ میلی‌لیتر اول دور ریخته شود.

در دو لوله آزمایش هر یک پنج میلی‌لیتر از محلول صاف شده عسل ریخته و به یکی از آن‌ها پنج میلی‌لیتر آب مقطر (نمونه) و به دیگری پنج میلی‌لیتر بی‌سولفیت سدیم افزوده و جذب لوله نمونه در مقابل شاهددر طول‌موج‌های ۲۸۴ و ۳۳۶ قرائت می‌شود (ISIRI 92، ۲۰۰۷):

$$HMF = (A_{284} - A_{330}) \times 149.7 \times 5 \times \frac{D}{W}$$

D: ضریب رقت، W: وزن نمونه عسل

آنالیز آماری نتایج: داده‌های جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ تحلیل می‌گردند، یافته‌ها در قالب جداول آماری ارائه می‌گردد، برای بررسی نرمال بودن توزیع متغیرهای مورد بررسی از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف Kolmogorov-Smirnov test استفاده می‌شود، برای مقایسه میانگین بین گروه‌ها از تست تکمیلی one-way ANOVA استفاده می‌گردد که سطح معنی‌دار آن پنج صدم درنظر گرفته می‌شود.

نتایج

در بررسی حال حاضر (جدول ۱) از نظر pH ، اسیدیته، رطوبت، خاکستر، HMF، DPPH و میزان فنل بین مناطق مختلف تولید عسل تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵).

جدول ۱: میانگین± انحراف معیار، حداقل-حداکثر خصوصیات فیزیکوشیمیایی در ۳۲ نمونه عسل جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران

پارامتر / منطقه	جنوب	مرکز	شمال	شمال‌غربی
DPPH* درصد	۷۰/۰۸±۳/۰۵ (۶۶/۴۲-۷۴/۷۷)	۶۹/۶۳±۱/۳۱ (۶۵/۸۲-۷۳/۱۶)	۷۳/۴۹±۱/۱۱ (۷۰/۴۱-۷۷/۵۲)	۵۲/۱۷±۱/۸۰ (۳۰/۸۹-۶۸/۴۹)
ترکیبات فنولی* میلی‌گرم در صد گرم	۱۹/۵۷±۱/۰۵ (۱۵/۵۲-۲۱/۳۵)	۱۱/۸۳±۰/۷۶ (۱۱/۹-۱۲/۸۹)	۳۳/۸۷±۰/۹۱ (۲۶/۷۷-۵۲/۱۸)	۳۳/۲۳±۰/۷۹ (۲۵/۲۹-۴۴/۶۶)
رطوبت* درصد	۱۵/۴۲±۰/۱۲ (۱۴/۹-۱۵/۸)	۱۵/۴۴±۰/۰۷ (۱۵/۲-۱۵/۸)	۱۵/۳۰±۰/۰۶ (۱۵/۱-۱۵/۵)	۱۷/۷۲±۰/۰۸ (۱۶/۷-۱۸/۴)
HMF* میلی‌گرم در کیلوگرم	۱۱/۹۲±۰/۲۶ (۱۰/۷۷-۱۳/۰۲)	۵/۲۸±۰/۲۹ (۴/۳۴-۷/۴۲)	۵/۷۲±۰/۱۴ (۴/۴۳-۷/۵۴)	۹/۶۶±۰/۱۲ (۴/۳۴-۱۹/۳۱)
اسیدیته* میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم	۸/۹۰±۰/۵۷ (۷/۵-۱۰/۵)	۸/۹۵±۰/۳۶ (۸-۱۰)	۱۰/۵±۰/۴۲ (۹-۱۱/۵)	۱۷/۳۷±۰/۶۵ (۱۵-۲۰)
pH*	۴/۴۱±۰/۰۱ (۴/۳۶-۴/۴۶)	۴/۳۲±۰/۰۱ (۴/۳۰-۴/۳۶)	۴/۳۶±۰/۰۲ (۴/۳۰-۴/۴۱)	۴/۲۲±۰/۰۳ (۴/۰۸-۴/۳۶)
قند احیاکننده درصد	۷۶/۵۶±۰/۵۱ (۷۲/۳۶-۸۰/۸۸)	۷۲/۹۵±۰/۵۶ (۷۱/۴۲-۷۴/۳۲)	۷۷/۴۶±۰/۶۰ (۷۵/۱۲-۸۰/۳۴)	۷۹/۱۳±۰/۶۴ (۷۲/۲۸-۸۰/۵۵)
ساکارز درصد	۲/۵۷±۰/۲۴ (۱/۳۷-۳/۳۴)	۳/۹۳±۰/۱۲ (۲/۰۱-۴/۷۱)	۲/۶۹±۰/۳۵ (۱/۹-۴/۷۷)	۳/۷۲±۰/۱۵ (۲/۳۶-۴/۸۸)
خاکستر* درصد	۰/۴۳±۰/۰۳ (۰/۲-۰/۶)	۰/۳۱±۰/۰۳ (۰/۲-۰/۴)	۰/۲۴±۰/۰۳ (۰/۲-۰/۴)	۰/۱۹±۰/۰۲ (۰/۱۱-۰/۲۳)

* در تست‌هایی که با علامت ستاره مشخص شدند تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها وجود داشت (P<۰/۰۵).

بین محتوای ساکارز و قند قبل از هیرولیز عسل‌های مناطق مختلف تفاوت معنی داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵). دامنه خاکستر ۰/۶-۰/۲٪ بود و بین نمونه‌های نواحی جنوب با شمال‌غربی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. دامنه HMF ۴/۴۹ تا ۱۷/۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و بین نمونه‌های نواحی جنوب با مرکزی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. دامنه DPPH و محتوای تام فنولیک به‌ترتیب ۳۲/۳۷ تا ۷۴/۷۷ درصد و ۱۲/۶۹ تا ۵۴/۶۶ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم عسل بود. از لحاظ DPPH اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌های شمال‌غربی با نمونه‌های جنوب، مرکزی و شمال مشاهده شد. از نظر محتوای تام فنولیک بین عسل‌های شمال غربی با نمونه‌های شمال تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما بین سایر مناطق تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. دامنه میزان اسیدیته و رطوبت به‌ترتیب ۸ تا ۲۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم، ۱۴/۹ تا ۱۸/۸ درصد بود که از لحاظ این دو پارامتر بین نمونه‌های ناحیه شمال‌غربی با سایر نواحی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. دامنه pH برابر با ۴/۰۶ تا ۴/۳۹ بود که بین نمونه‌های شمال‌غرب کشور با نمونه‌های جنوب و مرکز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). دامنه قند احیاکننده ۷۱/۴۲ تا ۸۰/۸۸٪ بود و اختلاف معنی‌داری بین نمونه‌ها مشاهده نشد. دامنه ساکارز ۱/۷ تا ۴/۸۸٪ بود. هیچ تفاوت معنی‌داری بین محتوای ساکارز این نمونه‌های عسل مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

بحث

نتایج نشان می‌دهد که تمامی عسل‌های جمع‌آوری شده از مناطق جغرافیایی مختلف ایران، از نظر تمام خصوصیات فیزیکی و شیمیایی مورد آزمایش، از کیفیت مطلوبی برخوردار بوده و نتایج به‌دست آمده مطابق با مقادیر گزارش شده در استاندارد ملی ایران (جدول ۲) و کدکس می‌باشد. استاندارد جهانی برای pH عسل در محدوده ۲/۵ تا ۴/۳ (متوسط ۳/۳۹) است، برای میزان اسیدیته در طرح اروپایی تا ۴۰ و در طراحی کدکس تا ۵۰ میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم، برای رطوبت حداکثر ۲۰ درصد است، برای خاکستر حداکثر ۰/۶ درصد، برای HMF حداکثر ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم، برای قند قبل از هیدرولیز حداقل ۶۵ درصد و برای ساکارز حداکثر ۵ درصد است (ISIRI 92، ۲۰۰۷). براین اساس و باتوجه به خصوصیات فیزیکوشیمیایی نمونه‌های آزمایش شده در مطالعه حاضر که در جدول ۱ ذکر شده است، نتایج اخیر مطابق با دامنه اعداد استاندارد ملی ایران و کدکس (جدول ۲) است. بین سال‌های ۱۹۹۷ و ۲۰۰۰، مطالعه‌ای از ۲۶۲ نمونه عسل از سراسر کشور در آرژانتین انجام شد. این نمونه‌ها برای از لحاظ عواملی مانند pH، رطوبت، خاکستر، اسیدیته و میزان هیدروکسی متیل فورفورال مورد آزمایش قرار گرفتند. متوسط pH ۳/۷، رطوبت متوسط ۱۶/۹ درصد، خاکستر بین ۰/۱ تا ۰/۶ درصد، میزان اسیدیته ۳/۳ تا ۳/۳۶ میلی‌لیتر در کیلوگرم و میزان هیدروکسی‌متیل فورفورال ۰/۳۱ تا ۳/۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. نتایج این مطالعه نشان داد که کیفیت نمونه‌ها در مقایسه با استانداردهای جهانی تقریباً مناسب است (Ouchemoukh و همکاران، ۲۰۰۷).

جدول ۲: ویژگی‌های شیمیایی عسل براساس استاندارد ملی ایران و نتایج مطالعه حال حاضر

ویژگی‌ها	حدود قابل قبول براساس استاندارد ملی ایران	دامنه نتایج مطالعه حال حاضر
قندهای احیاکننده قبل از هیدرولیز (گرم درصد)	حد اقل ۶۵	۷۱/۴۲ تا ۸۰/۸۸
ساکارز (گرم درصد)	حد اکثر ۵	۱/۷ تا ۴/۸۸
رطوبت (درصد)	حد اکثر ۳۰	۱۴/۹ تا ۱۸/۸
pH	حد اقل ۳/۵	۴/۰۶ تا ۴/۳۹
اسیدیته آزاد (میلی‌اکی‌والان در کیلوگرم)	حد اکثر ۴۰	۸ تا ۲۰
مواد معدنی (خاکستر) گرم درصد	حد اکثر ۰/۶	۰/۲ تا ۰/۶
هیدروکسی متیل فورفورال HMF (میلی‌گرم در کیلوگرم)	حد اکثر ۴۰	۴/۴۹ تا ۱۷/۵۵

Ahmed و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه‌ای خواص فیزیکوشیمیایی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل در الجزایر که از منابع گیاهی مختلف تولید شده بود را مورد ارزیابی قرار دادند. آن‌ها خواص مختلفی از قبیل اسیدیته آزاد، pH، رطوبت، میزان هیدروکسی متیل فورفورال و میزان قند را ارزیابی کردند. علاوه بر این، نمونه‌های عسل از لحاظ مقدار کل ترکیبات فنلی مورد بررسی قرار گرفت. آن‌ها از روش DPPH برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عسل استفاده کردند. نتایج نشان داد که نمونه‌های عسل مورد مطالعه مناسب و مطابق با استانداردهای بین‌المللی از لحاظ فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات فیزیکوشیمیایی است. نتایج مطالعه حال حاضر با مطالعه‌های پیشین مطابقت داشت. به‌طورکلی در مطالعه انجام شده علت اختلاف معنی‌دار عسل مناطق شمال‌غربی کشور (که از مناطق بسیار پر تولید عسل در کشور به‌شمار

می‌روند) با سایر مناطق از لحاظ بیش‌تر پارامترهای مورد سنجش را می‌توان به نوع پوشش گیاهی غالب آن منطقه (گون) و تفاوت آن با سایر مناطق نسبت داد. اسیدیته عسل به‌دلیل وجود اسیدهای گلوکونیک، پیرووِیک، مالیک و سیتریک و یون‌های معدنی مانند فسفات، سولفات و کلرید بوده که بر روی عطر و طعم تأثیر می‌گذارد (Viuda-Martos و همکاران، ۲۰۱۰). رطوبت معیار مناسبی برای بررسی کیفیت عسل است و برای افزایش ماندگاری عسل در هنگام ذخیره‌سازی بسیار مهم است (Saxena و همکاران، ۲۰۱۰).

Saxena و همکاران (۲۰۱۰)، با سنجش میزان رطوبت در پنج نمونه عسل هندی گزارش دادند که میزان رطوبت این عسل‌ها در محدوده‌ای است که با توجه به آن می‌توان به ظرفیت نگه‌داری خوب این نمونه‌ها پی برد. در مطالعه حال حاضر نمونه‌های مناطق جنوب، مرکز و شمال کشور دارای میزان رطوبت کم‌تر و در نتیجه ظرفیت نگه‌داری و انبار مانی بالاتری به نسبت نمونه‌های مناطق شمال‌غربی کشور هستند. به‌منظور تسهیل فرآیند انجام گرفته بر روی عسل و حفظ کیفیت مناسب نمونه‌های عسل، معمولاً عسل تازه حرارت داده می‌شود، اما عملیات حرارتی بیش از حد منجر به تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال شده و کیفیت عسل را کاهش می‌دهد. هیدروکسی متیل فورفورال را می‌توان با شرایط اسیدی و یا با واکنش میلارد تشکیل داد. این ماده در طی فرآیند حرارتی با آزاد شدن مولکول‌های آب از اسیدهای قندهایی مانند فروکتوز و گلوکز در شرایط کاتالیزوری به‌دست می‌آید. عوامل مختلفی در شکل‌گیری این ماده نقش دارند که از این بین می‌توان عملیات حرارتی بر روی عسل و هم‌چنین عواملی مانند ترکیبات عسل، منابع گیاهی، شرایط ذخیره‌سازی، مدت زمان و دمای نگه‌داری را نام برد (Baglio، ۲۰۱۸). در مطالعه حال حاضر میزان هیدروکسی متیل فورفورال در نواحی مرکزی (۵/۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم) و شمال کشور (۵/۷۲ میلی‌گرم در کیلوگرم) کم‌تر از سایر مناطق بود (جنوب ۱۱/۹۲، شمال‌غربی ۹/۶۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) که می‌توان به تیمار حرارتی و شرایط انبارمانی بهتر در آن مناطق اشاره کرد. Gomes و همکاران (۲۰۱۰) میزان قند قبل هیدرولیز و ساکارز در ۵ نمونه عسل پرتغالی را در محدوده ۶۷/۷ تا ۷۳/۷ و ۳/۴ تا ۹/۷ درصد گزارش کردند.

غلظت بالای ساکارز (بیش از پنج درصد) در عسل می‌تواند ناشی از تغذیه بیش از حد زنبورها با شربت ساکارز یا برداشت زودرس عسل باشد که در این‌صورت ساکارز توسط آنزیم اینورتاز به‌طور کامل به گلوکز و فروکتوز تبدیل نمی‌شود (Baglio، ۲۰۱۸). در مطالعه حال حاضر تمامی نمونه‌ها از لحاظ میزان قند قبل از هیدرولیز و درصد ساکارز در شرایط کاملاً مطلوبی قرار داشتند که می‌تواند نتیجه بهبود تکنیک‌های مدیریتی و پرورش زنبورعسل و استفاده‌مناسب و به اندازه شربت عسل در تغذیه زنبورها در سال‌های اخیر باشد. Pichichero و همکاران (۲۰۰۹) اظهار داشتند که محتوای آنتی‌اکسیدانی موجود در عسل به نوع گلی که توسط زنبورها مورد استفاده قرار می‌گیرد، فصل، محیط و فرآوری آن‌ها بستگی دارد. Sosha و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۷ نمونه عسل لهستانی را در محدوده ۱۸/۲۱ تا ۴۶/۴٪ گزارش کردند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل طبیعی ممکن است به وجود بسیاری از مواد مختلف مانند آنزیم‌ها، محصولات واکنش میلارد، اسیدهای آلی، اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها، اسیدهای آمینه، پپتیدها، اسیداسکوربیک و مواد شبه کاروتنوئید نسبت داده شود. فعالیت آنتی اکسیدانی عسل نیز مانند سایر خواص آن، به منابع گل بستگی دارد که غالباً به عوامل فصلی و محیطی و هم‌چنین به‌روش پردازش وابسته است (Pichichero و همکاران، ۲۰۰۹). در یک مطالعه مشابه Boussaid و همکاران (۲۰۱۴)، پنج نمونه عسل از مناطق مختلف تونس جمع‌آوری و میزان ترکیبات فنلی نمونه‌ها را در محدوده ۳۲/۷ تا ۱۱۹/۴۹ میلی‌گرم در ۱۰۰ گرم عسل گزارش کردند. در مطالعه حال حاضر عسل مناطق شمالی دارای بیش‌ترین میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی (۷۳/۴۹ درصد) و ترکیبات فنولیک (۳۳/۸۷ میلی‌گرم در صد گرم) می‌باشد که علت آن را می‌توان به پوشش گیاهی و منابع گل در آن منطقه نسبت داد.

نتایج حاصل از آزمایشات فیزیکوشیمیایی تنوع گسترده‌ای را در میان انواع عسل‌های مورد آزمایش نشان داد. عسل مناطق شمالی به دلیل داشتن کم‌ترین میزان رطوبت (۱۵/۳۰ درصد) در بین نمونه‌های عسل ویسکوزترین عسل محسوب می‌شود. بنابراین نسبت به سایر نمونه‌ها مدت ماندگاری بیش‌تری در طول انبارداری دارد. عسل شمال (۳۳/۸۷ میلی‌گرم در صد گرم) و شمال‌غربی (۳۳/۲۳ میلی‌گرم در صد گرم) دارای بیش‌ترین ترکیبات فنولیک و عسل شمال بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۷۳/۴۹ درصد) و در نتیجه به‌دلیل دارا بودن آنزیم‌ها و اسیدهای آمینه ضروری دارای بالاترین ارزش تغذیه‌ای می‌باشند. بر اساس این تحقیق و مقایسه آن با بررسی‌های مشابه می‌توان بیان نمود که عسل‌های مناطق مختلف ایران از کیفیت مناسبی به لحاظ فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی برخوردار است که می‌تواند نتیجه بهبود تکنیک‌های مدیریتی و پرورش زنبور عسل در سال‌های اخیر باشد. انواع مختلف عسل با توجه به منشا گیاهی در سراسر کشور تولید می‌شود که هر کدام علاوه بر داشتن خواص درمانی دارای ویژگی‌های مخصوص به خود نیز می‌باشند که به هنگام انتخاب عسل می‌تواند مورد توجه قرار گیرد. عسل این مناطق در صورت عدم تقلب و مدیریت صحیح و علمی می‌تواند قابل مقایسه با استاندارد جهانی نیز باشد و در نهایت با تولید عسل مرغوب و تایید آن به‌وسیله این آزمون‌ها می‌توان به افزایش اعتماد عمومی و بالا رفتن میزان مصرف

سرانه این محصول در کشور رسید. در پایان می‌توان گفت منشا گیاهی، جغرافیایی، نوع گل و ... می‌تواند تاثیر به‌سزایی در میزان و نوع ترکیبات عسل و در نتیجه خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تغذیه‌ای آن داشته باشند.

منابع

1. **Ahmed, M.; Khiati, B.; Meslem, A.; Aissat, S. and Djebli, N., 2014.** Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of raw honey from Algeria. J Microbial Biochem Technol. Vol. 4, 6 p.
2. **Alvarez-Suarez, J.M.; Tulipani, S.; Díaz, D.; Estevez, Y.; Romandini, S.; Giampieri, F. and Battino, M., 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. Vol. 48, No. 8-9, pp: 2490-2499.
3. **Alzahrani, H.A.; Alsabehi, R.; Boukraâ, L.; Abdellah, F.; Bellik, Y. and Bakhotmah, B.A., 2012.** Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. Molecules. Vol. 17, No. 9, pp: 10540-10549.
4. **Baglio, E., 2018.** Honey: processing techniques and treatments. In Chemistry and Technology of Honey Production Springer, Cham. pp: 15-22.
5. **Bertoncelj, J.; Doberšek, U.; Jamnik, M. and Golob, T., 2007.** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. Food Chemistry. Vol. 105, No. 2, pp: 822-828.
6. **Boussaid, A.; Chouaibi, M.; Rezig, L.; Hellal, R.; Donsì, F.; Ferrari, G. and Hamdi, S., 2018.** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. Arabian Journal of Chemistry. Vol. 11, No. 2, pp: 265-274.
7. **Dong, R.; Zheng, Y. and Xu, B., 2013.** Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. Food and bioprocess technology. Vol. 6, No. 3, pp: 762-770.
8. **Ferreira, I.C.; Aires, E.; Barreira, J.C. and Estevinho, L.M., 2009.** Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. Food Chemistry. Vol. 114, No. 4, pp: 1438-1443.
9. **Gomes, S.; Dias, L.G.; Moreira, L.L.; Rodrigues, P. and Estevinho, L., 2010.** Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. Food and Chemical Toxicology. Vol. 48, No. 2, pp: 544-548.
10. **Iritie, B.M.; Wandan, E.N.; Yapo, M.Y.; Fantodji, A. and Bodji, N.C., 2014.** Comparative analysis of physico chemical characteristics of honeys produced in the multi-floral arboretum of the national school of agronomy of Yamoussoukro. International Journal of Agricultural Policy and Research. Vol. 2, No. 11, pp: 379-382.
11. **Isla, M.I.; Craig, A.; Ordoñez, R.; Zampini, C.; Sayago, J.; Bedascarrasbure, E. and Maldonado, L., 2011.** Physico chemical and bioactive properties of honeys from Northwestern Argentina. LWT-Food Science and Technology. Vol. 44, No. 9, pp: 1922-1930.
12. **ISIRI 92. 2007.** Honey-Specification and test methods, 6th Revision, Institute of Standards and Industial Research of Iran, Tehran. pp: 1-24.
13. **Lakzade, L.; Qaysari, H. and Mahianeh, A., 2013.** Comparison of Physicochemical and Microbial Properties of Honey of Different Vegetable Origin in Isfahan Province, Veterinary Research and Construction Journal. Vol. 100, pp: 30-23.
14. **Mahmoudi, R.; Gajarbeygi, P. and Emami, J., 2015.** Honey contamination with heavy metals in Iran**.** J Qazvin Univ Med Sci**.** Vol. 18, No. 6, pp: 67-70.
15. **Mahmoudi, R.; Norian, R. and Pajohi-Alamoti, M., 2014.** Antibiotic residues in Iranian honey by ELISA. International journal of food properties. Vol. 17, No. 10, pp: 2367-2373.
16. **Mahmoudi, R.; Kiyani, R.; Moosavi, M. and Norian, R., 2016.** Survey of Hygienic quality of honey samples collected form Qazvin province during 2011-2012. Archives of Hygiene Sciences. Vol. 5, No. 1, pp: 9-14.
17. **Mahmoudi, R.; Zare, P.; Tajik, H.; Shadfar, S. and Nyiazpour, F., 2012.** Biochemical properties and microbial analysis of honey from North-Western regions of Iran: Seasonal effects on physicochemical properties of honey. African Journal of Biotechnology. Vol. 11, No. 44, pp: 10227-10231.
18. **Mohammadzadeh, M. and Tukmechi, A., 2016.** A survey on the effects of ethanol extract of propolis, β-glucan and levamisole on CHSE-214 Cell line. Journal of Animal Environment. Vol. 7, No. 4, pp: 95-104.
19. **Mohebodini, H.; Bayazidi Azar, S.; Seyedsharifi, R.; Hedayat Evrigh, N. and seifdavati, J., 2019.** The effects of artificial insemination and natural mating on performance of Iranian honey bee (*Apis mellifera* M.) colonies. Journal of Animal Environment. Vol. 11, No. 1, pp: 309-314.
20. **Moniruzzaman, M.; Sulaiman, S.A.; Azlan, S.A.M. and Gan, S.H., 2013.** Two-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey. Molecules. Vol. 18, No. 12, pp: 14694-14710.
21. **Ouchemoukh, S.; Louaileche, H. and Schweitzer, P., 2007.** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. Food control. Vol. 18, No. 1, pp: 52-58.
22. **Perna, A.; Simonetti, A.; Intaglietta, I. and Gambacorta, E., 2013.** Antioxidant properties, polyphenol content and colorimetric characteristics of different floral origin honeys from different areas of Southern Italy. Journal of Life Sciences. Vol. 7, No. 4, pp: 428-436.
23. **Pichichero, E.; Canuti, L. and Canini, A., 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. Vol. 89, No. 4, pp: 609-616.

24. **Samarghandian, S.; Farkhondeh, T. and Samini, F., 2017.** Honey and health: A review of recent clinical research. Pharmacognosy research. Vol. 9, No. 2, pp: 121.

25. **Šarić, G.; Marković, K.; Major, N.; Krpan, M.; Uršulin Trstenjak, N.; Hruškar, M. and Vahčić, N., 2012.** Changes of antioxidant activity and phenolic content in acacia and multifloral honey during storage. Food Technology and Biotechnology. Vol. 50, No. 4, pp: 434-441.

26. **Saxena, S.; Gautam, S. and Sharma, A., 2010.** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. Food chemistry. Vol. 118, No. 2, pp: 391-397.

27. **Socha, R.; Juszczak, L.; Pietrzyk, S.; Gałkowska, D.; Fortuna, T. and Witczak, T., 2011.** Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. International journal of food science and technology. Vol. 46, No. 3, pp: 528-534.

28. **Sowndhararajan, K.; Joseph, J.M.; Arunachalam, K. and Manian, S., 2010.** Evaluation of *Merremia tridentata* (L.) Hallier f. for in vitro antioxidant activity. Food Science and Biotechnology. Vol. 19, No. 3, pp: 663-669.

29. **Turkmen, N.; Sari, F.; Poyrazoglu, E.S. and Velioglu, Y.S., 2006.** Effects of prolonged heating on antioxidant activity and colour of honey. Food Chemistry. Vol. 95, No. 4, pp: 653-657.

30. **Vela, L.; de Lorenzo, C. and Perez, R.A., 2007.** Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties. Journal of the Science of Food and Agriculture, Vol. 87, No. 6, pp: 1069-1075.

31. **Viuda-Martos, M.; Ruiz-Navajas, Y.; Zaldivar-Cruz, J.M.; Kuri, V.; Fernández-López, J.; Carbonell Barrachina, Á.A. and Pérez-Álvarez, J., 2010.** Aroma profile and physico-chemical properties of artisanal honey from Tabasco, Mexico. International journal of food science & technology. Vol. 45, No. 6, pp: 1111-1118.

32. **Waston, D.H., 2002.** Food chemical safety V2: Additives. Cambridge, England: Woodhead Publishing Limited. pp: 283-285.