شبکه آزمایشگاهی فناوری نانو

فصلنامه تخصصی

دانش آزمایشگاهی ایران

ISSN 2538-3450

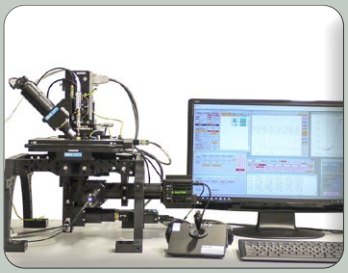
سال نهم ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۴۰۰ ■ شماره پیاپی ۳۳

روش آزمون غربالگری با توان بالا چیست؟

معرفی توانمندی مجموعه‌های عضو شبکه آزمایشگاهی بر بستر فضای مجـازی

معرفی روش سنجش جذب ایمنی آنزیمی یا روش الایزا

آزمون‌های سنجش کیفیت عسل مطابق با استانداردهای ملی ایران



کاربرد میکروسکوپ الکترونی شیمیایی روبشی در مطالعه خوردگی فلزات

جایگاه و اهمیت نظام تایید صلاحیت ایران و ساختار کلی تایید صلاحیت آزمایشگاه‌های آزمون و کالیبراسیون براساس الزامات مرکز ملی تایید صلاحیت ایران

www.IJLK.ir
info@ijlk.ir

آزمون‌های سنجش کیفیت عسل مطابق با استانداردهای ملی ایران

نویسندگان
مهشید رحیمی‌فرد[۱و۳*]
محمود نادری[۲و۳]
*m_rahimifard@yahoo.com

واژه‌های کلیدی
قندهای احیا کننده، ساکارز، هیدروکسی متیل فورفورال (HMF)، فعالیت دیاستازی، پرولین، عسل.

چکیده
معتبرترین روش برای تشخیص کیفیت عسل و آگاهی از خلوص آن، روش‌های آزمایشگاهی است. آنالیز عسل طبیعی روش آسان و سریعی نیست و حتی با وجود ادعای برخی مراکز، مبنی بر تشخیص عسل طبیعی، تایید کیفیت عسل و اعتبارسنجی داده‌های آنالیز آن همچنان مورد مناقشه است. با این وجود عواملی نظیر اندازه‌گیری درصد قندهای احیا کننده و ساکارز، تعیین نسبت فروکتوز به گلوکز، اندازه‌گیری هیدروکسی متیل فورفورال[۴]، تعیین میزان فعالیت دیاستازی، اندازه‌گیری پرولین، رطوبت، اسیدیته آزاد، هدایت الکتریکی، خاکستر و باقیمانده آفت‌کش‌ها در عسل از جمله عواملی هستند که با استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی معمول نظیر pH متر، هدایت‌سنج و کوره تا دستگاه‌های اختصاصی‌تر مانند اسپکتروفوتومتر، کروماتوگرافی گازی[۵] و کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا[۶] قابل انجام هستند و این امکان را برای تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان فراهم می‌کند تا از کیفیت عسل خود مطلع باشند. در این مقاله قصد داریم با معرفی آزمون‌های آزمایشگاهی و مروری بر استانداردهای ملی ایران، شما را با آزمون‌های عسل و حدود قابل قبول برای عسل طبیعی آشنا کنیم.

مقدمه

با توجه به عدم قطعیت در آنالیز عسل و تقلب‌های گسترده توسط افراد سود جو، استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، با هدف معرفی ویژگی‌های اصالت‌سنجی، کیفیت و ایمنی، آلاینده‌ها، نمونه‌برداری، روش‌های آزمون و نشانه‌گذاری انواع عسل، برای نخستین بار در سال ۱۳۴۴ تدوین و منتشر شد و براساس پیشنهادهای دریافتی، بررسی و تایید کمیسیون‌های مربوطه برای هشتمین بار در سال ۱۳۹۸ مورد تجدید نظر قرار گرفت. با توجه به تولید، مصرف و صادرات بالای عسل در ایران و همچنین وجود امکانات آزمایشگاهی مورد نیاز و آزمایشگاه‌های متعدد انجام‌دهنده آزمون‌های سنجش کیفیت آن، می‌توان انتظار داشت که با گسترش مراکز انجام دهنده آزمون‌های تشخیص عسل‌های با کیفیت و آگاهی از توانمندی مذکور، در کاهش میزان تقلبات این محصول و قیمت‌گذاری مناسب آن کمک زیادی به این صنعت انجام شود. در این مقاله به بررسی سه دسته از ویژگی‌های لازم در تعیین کیفیت عسل شامل ویژگی‌های اصالت سنجی، کیفیت و ایمنی، و آلاینده‌ها خواهیم پرداخت.

ویژگی‌های اصالت‌سنجی عسل

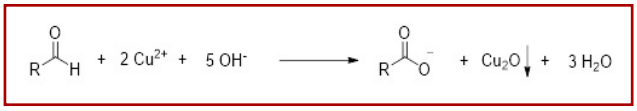
براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، ویژگی‌های اصالت‌سنجی عسل باید مطابق جدول (۱) باشد که در ادامه به معرفی هر یک از عوامل و آزمون‌های آنها خواهیم پرداخت [۱].

جدول (۱): ویژگی‌های اصالت‌سنجی عسل [۱].

ردیف	ویژگی	حدود قابل قبول
۱	قندهای احیاکننده قبل از هیدرولیز (درصد وزنی)	کمینه ۶۵
۲	ساکارز (درصد وزنی)	بیشینه ۵
۳	نسبت فروکتوز به گلوکز	کمینه ۰/۹
۴	فعالیت دیاستازی (بر حسب واحد دیاستاز)	کمینه ۸
۵	پرولین (mg/Kg)	کمینه ۱۸۰
۶	هیدروکسی متیل فورفورال (mg/Kg)	بیشینه ۴۰

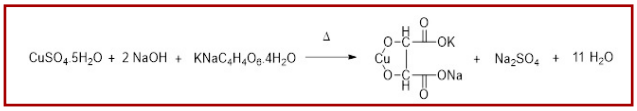
درصد قندهای احیاکننده و ساکارز

عسل یک ترکیب محلول در آب بسیار غلیظ قندی است و مهمترین قندهای آن فروکتوز، گلوکز و ساکارز هستند. قندها از لحاظ احیاکنندگی به دو دسته احیاکننده و غیراحیاکننده تقسیم می‌شوند. قندهای احیاکننده به علت داشتن گروه‌های آلدئیدی یا آلفاهیدروکسی کتونی دارای خواص کاهندگی هستند. تمامی مونوساکاریدها و برخی دی‌ساکاریدها نظیر لاکتوز و مالتوز قند احیاکننده هستند. قندهای احیاکننده می‌توانند یون‌های فلزاتی مانند مس دو ظرفیتی (Cu^{2+}) و یون نقره را در محیط قلیایی احیا کنند. مس دو ظرفیتی پس از احیا به‌صورت مس یک ظرفیتی (Cu^{+}) در می‌آید. این یون کمتر از مس دو ظرفیتی در آب محلول است و در نتیجه به‌صورت رسوب سبز رنگ CuOH یا رسوب قرمز رنگ Cu_2O و یا مخلوط زرد رنگی از این دو ترکیب در می‌آید. قندهای احیاکننده که بخش اصلی عسل را تشکیل می‌دهند توسط آزمون فهلینگ اندازه‌گیری می‌شوند. اساس این روش، اندازه‌گیری حجم محلول قندی (نمونه مورد نظر) لازم برای احیاء حجم معینی از مخلوط دو محلول فهلینگ در مجاورت متیلن بلو به‌عنوان معرف است. در این آزمون مس دو ظرفیتی توسط کربوهیدرات احیاکننده به مس یک ظرفیتی تبدیل می‌شود و رنگ محلول از آبی به رسوب قرمز آجری تغییر خواهد کرد (شکل (۱)).



شکل (۱): واکنش عامل آلدهیدی با محلول فهلینگ و تشکیل رسوب آجری اکسید مس یک ظرفیتی [۲].

محلول فهلینگ در واقع شامل دو محلول بوده که اولی حاوی سولفات مس محلول در آب است و دومی دارای تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم در محیط قلیایی است. این دو محلول پیش از انجام آزمون با حجم‌های مساوی از یکدیگر مخلوط می‌شوند (شکل (۲)).



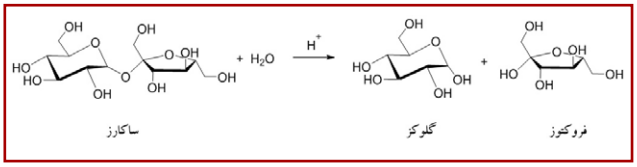
شکل (۲): مخلوط دو محلول فهلینگ و تشکیل کمپلکس مس بلافاصله پیش از انجام آزمون قندهای احیا کننده [۲].

وجود تارتارات مضاعف سدیم پتاسیم به‌عنوان ماده تثبیت کننده الزامی است؛ زیرا این ترکیب از تبدیل مس احیا شده به مس اکسید ممانعت می‌کند. همان‌گونه که پیشتر هم اشاره شد این آزمون به pH قلیایی نیازمند است که این شرایط با استفاده از سدیم هیدروکسید تامین می‌شود. از دیگر شرایط انجام این آزمون، حرارت‌دهی در حین آزمایش است، در واقع عمل تیتراسیون در حال جوشیدن انجام می‌شود. این کار برای جلوگیری از مزاحمت اکسیژن هوا صورت می‌گیرد، زیرا اکسیژن باعث انجام واکنش برگشتی و تولید دوباره مس دوظرفیتی می‌شود.

در میان قندهای موجود در عسل، ساکارز قندی است که خصلت احیاکنندگی ندارد. ساکارز نام علمی شکر معمولی یا شکر سفید است. این ترکیب یک قند دو مولکولی است که از یک مولکول گلوکز و یک مولکول فروکتوز به‌دست می‌آید. تغذیه زنبور با شکر یا شربت معمولا در فصل پس از برداشت عسل (پاییز) به‌منظور ذخیره غذایی زنبوران در زمستان امری عادی محسوب می‌شود. این تغذیه گاهی نیز در ابتدای فصل بهار برای کمک به رشد کلنی نیز انجام می‌شود. اگر زنبور عسل علاوه‌بر استفاده از شهد گل‌ها و گیاهان، از شربت، شکر و یا سایر مواد قندی که در اختیار آنها می‌گذارند، استفاده کرده باشد، با انجام آزمایش‌های متعدد که یکی از آنها اندازه‌گیری ساکارز در عسل است، می‌توان به این موضوع پی برد، به عسل به‌دست آمده از این روش عسل تغذیه‌ای می‌گویند. میزان ساکارز عسل، به نوع گیاه غالبی که زنبور از آن تغذیه کرده است نیز بستگی دارد ولی براساس استاندارد ملی ایران به شماره۹۲، حداکثر میزان قابل قبول ساکارز در عسل طبیعی در ایران ۵ گرم درصد است.

ساکارز در محیط قلیایی پایدار است ولی در محیط اسیدی،

هیدرولیز شده و به قندهای احیاکننده گلوکز و فروکتوز تبدیل می‌شود (شکل (۳)). بنابراین، اختلاف میزان قندهای احیاکننده قبل و بعد از هیدرولیز نشان‌دهنده میزان ساکارز موجود در عسل است. بنابراین، با کسر کردن مقدار اولیه قندهای احیاکننده از مقدار آن بعد از هیدرولیز، مقدار ساکارز موجود در عسل به‌دست می‌آید.



شکل (۳): هیدرولیز اسیدی ساکارز به گلوکز و فروکتوز [۳].

تعیین دقیق قندهایی نظیر فروکتوز، گلوکز، ساکارز، تورانوز و مالتوز و همچنین سایر ساکاریدها مانند ملزیتوز، ارلوز، ایزومالتوز و رافینوز توسط کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) قابل انجام است. این روش که در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۳۰۵۹ شرح داده شده‌است از یک ستون آمینی و یک آشکارساز ضریب شکست به‌منظور اندازه‌گیری دقیق قندهای مذکور استفاده می‌کند [۴]. با توجه به اینکه حدود معرفی شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، برای قندهای موجود در عسل با روش‌های غیردستگاهی مشخص شده، شایسته است محققان و پژوهشگران کشور با استفاده از روش دقیق دستگاهی HPLC، اقدام به معرفی این حدود قابل قبول برای عسل‌های طبیعی نمایند.

متاسفانه امروزه بعضی از افراد متقلب برای افزایش حجم عسل تولیدی خود، اقدام به افزایش شربت فروکتوز و گلوکز به عسل می‌نمایند و بدین ترتیب علاوه‌بر افزایش میزان قندهای احیاکننده، میزان ساکارز را نیز کاهش می‌دهند. با وجود چنین تقلبات جدیدی روی میزان قندها در عسل، آزمون ساکارز به تنهایی نمی‌تواند ملاک صحیحی بر تعیین کیفیت عسل باشد و تکیه بر در صد ساکارز، می‌تواند انسان را به خطا بیاندازد.

آزمایش تعیین نسبت فروکتوز به گلوکز

میزان فروکتوز عسل حدود ۳۸ درصد و گلوکز آن حدود ۳۰ درصد است. بنابراین، در عسل‌های طبیعی و خالص نسبت فروکتوز به گلوکز معمولا عددی بین ۱ تا ۱/۲ است که این نسبت در عسل‌های مصنوعی معمولا عددی کمتر از ۰/۹۵ است که در استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، مقدار ۰/۹ به‌عنوان حداقل مقدار مجاز و قابل قبول برای این نسبت پذیرفته شده‌است.

در این روش، ابتدا میزان گلوکز به روش یدومتری محاسبه می‌شود. گلوکز دارای گروه آلدهیدی است و این گروه در مجاورت ید، اکسید شده و تبدیل به اسید گلوکونیک می‌شود. بخش مازاد ید نیز در مجاورت با چسب نشاسته با تیوسولفات سدیم تیتر می‌شود. این مقدار از کل ید مصرفی کم شده و براساس آن مقدار گلوکز به‌دست می‌آید. با توجه به اینکه قندهای احیاکننده قبل از هیدرولیز شامل گلوکز و فروکتوز است، با کاهش میزان گلوکز از قندهای احیاکننده، مقدار فروکتوز مشخص شده و سپس از تقسیم این دو مقدار بر هم نسبت فروکتوز به گلوکز تعیین می‌شود.

فعالیت دیاستازی

در عسل طبیعی آنزیم‌هایی از قبیل آمیلاز،کاتالاز، اینورتاز، فسفاتاز و گلوکز اکسیداز وجود دارند که به نام دیاستازها معروفند. عسل طبیعی به دلیل وجود این آنزیم‌ها فعالیت دیاستازی دارد که برای عملکرد دستگاه گوارش بسیار مفید است. از آنجا که آنزیم‌ها ماهیت پروتئینی دارند، در اثر گذشت زمان یا حرارت دیدن عسل، دناتوره شده و از بین می‌روند. در نتیجه، فعالیت دیاستازی عسل کاهش می‌یابد. بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، حداقل استاندارد میزان فعالیت دیاستازی عدد ۸ بر حسب واحد دیاستاز است. در هنگام قرائت نتیجه دیاستاز باید در نظر داشت که برخی از عسل‌های تک گل بطور طبیعی دارای فعالیت دیاستازی پایین هستند.

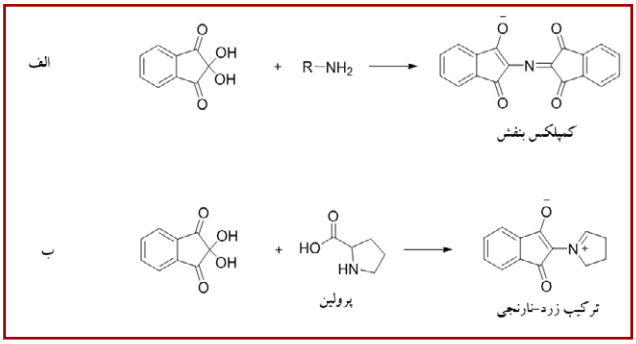
یک واحد دیاستاز مقدار آنزیمی است که ۰/۰۱گرم نشاسته را در مدت یک ساعت و در دمای ۴۰ درجه سلسیوس در شرایط آزمون هیدرولیز نماید. در این روش یک محلول استاندارد نشاسته که قابلیت ارزیابی با ید را دارد، به نمونه عسل اضافه می‌شود، آنزیم‌های موجود در نمونه در شرایط استاندارد موجب هیدرولیز نشاسته می‌شود و تغییر رنگ حاصل به‌عنوان دامنه شناسایی شدت واکنش به کار می‌رود. در این تبدیل، کاهش رنگ آبی در فواصل زمانی معین اندازه‌گیری می‌شود. زمان رسیدن به جذب مخصوص (۰/۲۳۵) در طول موج ۶۶۰ نانومتر با معادله رگرسیونی نمودار جذب بر حسب زمان تعیین شده و از تقسیم ۳۰۰ بر زمان به‌دست آمده، عدد دیاستاز حاصل می‌شود.

در ویرایش هفتم استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲ تعیین کیفی فعالیت دیاستازی نمونه عسل، با استفاده از حرارت دادن محلول عسل در مجاورت نشاسته و در دمای ۴۵ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت و سپس افزودن محلول ید و مقایسه با محلول شاهد، به‌عنوان روشی برای تعیین کیفیت عسل معرفی شده بود. در این روش، ظهور رنگ سبز زیتونی یا قهوه‌ای نشان دهنده این است که عسل دارای فعالیت دیاستازی است و ظهور رنگ آبی نشان دهنده عسل حرارت دیده یا عسل غیرطبیعی است. در ویرایش هشتم این استاندارد به دلیل دقت کم روش کیفی، فقط به روش کمی که پیشتر شرح داده شد، اشاره شده‌است.

آزمون پرولین

پرولین یکی از مهمترین آنزیم‌های موجود در عسل طبیعی است و آزمون پرولین یکی از روش‌های بسیار مهم در شناسایی کیفیت عسل است. هر چقدر میزان آنزیم پرولین در عسل بالاتر باشد، کیفیت عسل بهتر است به نوعی که نشان دهنده عدم تغذیه مصنوعی کندو است. براساس استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، میزان پرولین در عسل باید حداقل ۱۸۰ میلی‌گرم در کیلوگرم باشد.

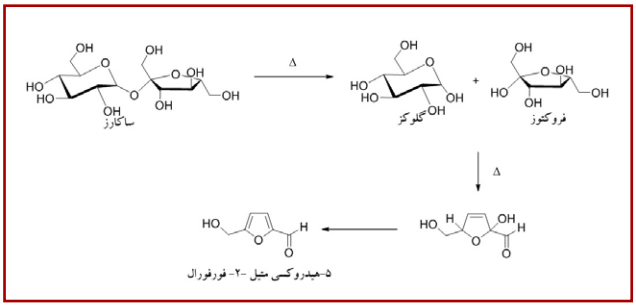
اندازه‌گیری پرولین در عسل باید مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۱۴۵ انجام شود. در این روش پرولین با نین هیدرین تشکیل ترکیب پیچیده رنگی می‌دهد. نین هیدرین ترکیبی است که با بیشتر آمینواسید وارد واکنش می‌شود و کمپلکس آبی رنگ هیدرین‌دانتین را تشکیل می‌دهد (شکل (۴-الف)). در این فرایند آمینواسید نیز به یک ترکیب آلدهیدی تبدیل می‌شود. این واکنش برای اسیدآمینه پرولین تا این حد پیش نمی‌رود زیرا گروه متیل موجود در پرولین مانع از کامل شدن آزمایش می‌شود، به همین دلیل پرولین با نین‌هیدرین کمپلکس زرد رنگ ایجاد می‌کند (شکل (۴-ب)). میزان پرولین از نسبت حداکثر جذب آزمونه و یک محلول مرجع در طول موج ۵۰۰ تا ۵۲۰ نانومتر محاسبه می‌شود [۵].



شکل (۴): (الف): واکنش نین هیدرین با اسیدهای آمینه و (ب): پرولین [۶].

اندازه‌گیری هیدروکسی متیل فورفورال (HMF)

در طی فرآیندهای مختلف تولید و نگهداری مواد غذایی، آلاینده‌هایی با اثرات سوء بر سلامتی انسان تشکیل می‌شود که از آن جمله می‌توان به تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) در عسل اشاره نمود. طی سال‌های اخیر به دلیل محرز شدن اثرات سرطان‌زایی HMF، سازمان‌های علمی و بهداشتی توجه ویژه‌ای روی این ماده داشته‌اند. این آلاینده، ترکیبی فورانی بوده که به‌طور عمده از طریق واکنش میلارد (حرارت‌دهی در حضور آمینواسیدها) و یا از طریق حرارت‌دهی در شرایط اسیدی ترکیبات قندی نظیر گلوکز، فروکتوز و ساکارز تشکیل می‌شود (شکل (۵)).



شکل (۵): تشکیل هیدروکسی متیل فورفورال در اثر حرارت‌دهی ساکارز، گلوکز و فروکتوز [۷].

تشکیل HMF در عسل به عوامل متعددی از قبیل pH و اسیدیته، فعالیت آبی، فعالیت آنزیم اینورتاز و دیاستاز وابسته است همچنین ارتباط معنی‌داری بین میزان این ترکیب با شرایط حرارتی مورد استفاده در فرایند سالم‌سازی و نگهداری شناسایی شده‌است. بعضی از تولیدکنندگان به دلیل مورد پسند واقع شدن در نظر مشتری، عسل تولیدی خود را گرم می‌کنند تا شکرک آن از بین برود غافل از اینکه از عوامل موثر در شکرک زدن عسل رطوبت بالا، درجه حرارت پایین نگهداری و میزان گلوکز بالای نمونه است و با گرم کردن عسل، ترکیبی سرطان‌زا به نام هیدروکسی متیل فورفورال در آن تولید می‌شود که برای سلامتی انسان مضر است. از طرفی این عامل می‌تواند، نشان دهنده افزودن شربت گلوکز باشد. چون در صنعت برای تولید شربت گلوکز، ساکارز را تحت تاثیر اسید و حرارت قرار می‌دهند که در آن، ترکیب هیدروکسی متیل فورفورال نیز ایجاد می‌شود. بر طبق استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، حد قابل قبول برای HMF حداکثر ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است.

کمیسیون بین‌المللی عسل[۷] سه روش برای تعیین HMF توصیه می‌کند. این روش‌ها شامل دو روش اسپکتروفتومتری (روش وایت و روش وینکلر) که به‌طور گسترده در آنالیزهای معمولی استفاده می‌شود و روش دیگر، HPLC است [۸].

در استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲ از روش توصیف شده توسط وایت استفاده می‌شود که در آن میزان جذب اشعه ماوراءبنفش محلول عسل آبی شفاف در برابر محلول مرجع همان عسل که در آن کروموفور ۲۸۴ نانومتری HMF با بی‌سولفیت از بین رفته است، تعیین می‌شود. تخریب کروموفور ۲۸۴ نانومتری ناشی از افزودن نوکلئوفیل به سیستم کربونیل α، β- غیراشباع موجود در هیدروکسی متیل فورفورال است [۹].

در روش وینکلر که در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۲۰۴۸ شرح داده شده‌است، محلول عسل با محلول‌های پاراتولوئیدین و اسید باربیتوریک واکنش می‌دهد و میزان جذب مواد رنگی تشکیل شده در مقابل محلول شاهد، درسل یک سانتی‌متری در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود [۱۰].

اساس روش HPLC که در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۲۱۸۶ شرح داده شده‌است نیز مشابه با روش وایت بوده با این تفاوت که در این روش نیازی به افزودن سدیم بی سولفیت نیست [۱۱].

ویژگی‌های کیفی و ایمنی عسل

علاوه‌بر ویژگی‌های اصالت‌سنجی عسل که در تشخیص تقلبات عسل بسیار کمک کننده هستند، برخی ویژگی‌های کیفی و ایمنی عسل نیز وجود دارند که در تشخیص و معرفی عسل‌های با کیفیت و همچنین قیمت‌گذاری عسل‌ها بسیار موثرند. علاوه‌بر مواردی نظیر حالت فیزیکی، رنگ، عطر و بو،

مـزه و عـدم وجود رنگ مصنوعی و کف ناشـی از ترشـی، براسـاس اسـتاندارد ملـی ایـران بـه شـماره ۹۲، مـوارد دیگـری نیـز وجـود دارنـد کـه در جـدول (۲) اشـاره شـده کـه در ادامه بـه آزمون‌های هـر یـک می‌پردازیم.

جدول (۲): ویژگی‌های کیفی و ایمنی عسل [۱].

ردیف	ویژگی	حدود قابل قبول
۱	رطوبت (درصد وزنی)	بیشینه ۲۰
۲	اسیدیته آزاد (meq/Kg)	بیشینه ۴۰
۳	خاکستر (درصد وزنی)	بیشینه ۰/۶
۴	هدایت الکتریکی (ms/cm)	بیشینه ۰/۸
۵	پلی فنل کل (mg/milt)	کمینه ۰/۰۳
۶	سرب (mg/Kg)	بیشینه ۴۰
۷	کادمیوم (mg/Kg)	بیشینه ۴۰
۸	میکروبیولوژی	مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۷۶۱۰

رطوبت عسل

مقـدار رطوبـت عسـل بسـیار حائـز اهمیـت اسـت زیـرا ایـن رطوبـت در تخمیـر و همچنیـن در تبلـور عسـل (شـکرک زدن) تاثیـر بسـزایی دارد، رطوبـت عسـلی کـه به‌طـور عـادی در کنـدو رسـیده باشـد، کمتـر از ۲۰ درصد اسـت و عسـل‌های حـاوی بیش از رطوبـت فـوق غیر اسـتاندارد هسـتند. درصد رطوبت بـه عواملی کـه در رسـیدن عسـل دخالـت دارنـد بسـتگی دارد. ایـن عوامـل عبارتنـد از: شـرایط آب و هوایـی و رطوبـت اصلـی شـهد. مقـدار رطوبـت عسـل پـس از برداشـت از کنـدو و اسـتخراج آن در نتیجه شـرایط ذخیره‌سـازی ممکـن اسـت تغییـر کنـد.

تعییـن رطوبـت عسـل بـا اندازه‌گیـری ضریـب شکسـت نـور[۸] انجـام می‌شـود. اگـر رطوبـت عسـل بیـش از مقـدار مذکـور باشـد مخمـر خاصـی به نـام مخمـر اسـموفیلیک[۹] در آن رشـد می‌کند و باعـث تخمیـر عسـل می‌شـود.

اسیدیته آزاد

بـر طبق اسـتاندارد ملی ایـران به شـماره ۹۲، میزان اسـیدیته آزاد بـرای عسـل حداکثـر ۴۰ میلـی اکـی‌والان در هـر کیلوگـرم پذیرفتـه شده‌اسـت. اسـیدهای موجـود در عسـل در سـاخت مـزه خـاص آن دخالـت دارنـد. اسـید موجود در عسـل احتمـالا در عدم رشـد میکروب‌هـا نیـز موثر اسـت. بیشـترین اسـیدی که در عسـل وجـود دارد اسـید گلوکونیـک اسـت کـه از تاثیـر آنزیـم گلوکـز اکسـیداز روی گلوکـز تولیـد می‌شـود. در ایـن واکنـش پراکسـید هیـدروژن نیـز تولیـد می‌شـود کـه از فسـاد عسـل جلوگیـری می‌کنـد.

چندیـن اسـید دیگـر نیـز در عسـل وجـود دارنـد کـه مقادیـر آنهـا متغیـر بـوده و عبارتنـد از: اسـید اسـتیک، اسـید بوتریـک، اسـید سـیتریک، اسـید فرمیـک، اسـید لاکتیـک، اسـید مالیـک، اسـید پیروگلوتامیک، اسـید فسـفریک، اسـید سوکسـینیک، اسید اگزالیـک. در مـواردی کـه در مراکـز پـرورش زنبور عسـل، زنبورها بـا محلول شـکر تغذیـه شـوند، زنبورداران به عسـل به‌دسـت آمده اسـید سـیتریک اضافـه می‌کننـد تـا راحت‌تـر هیدرولیز شـود و در نتیجـه ایـن کار، اسـیدیته آزاد در ایـن عسـل‌ها از حد مجـاز بالاتر مـی‌رود و ایـن امر نشـان دهنده ناخالص بودن این عسـل‌ها اسـت.

خاکستر

اگـر یـک مـاده غذایـی را بـا حـرارت و مـواد شـیمیایی، اکسـید کـرده و بسـوزانید، خاکسـتر باقـی می‌مانـد کـه بـه نوعـی نشـان‌دهنده مـواد معدنی موجود در آن اسـت. میـزان مواد معدنی موجـود در عسـل عامل تعییـن کننـده کیفیت، برای عسـل‌های با منشـاء گیاهـی اسـت. این عامـل برای عسـل طبیعـی حداکثر ۰/۶ گـرم درصـد پذیرفتـه شده‌اسـت.

هدایت الکتریکی عسل

ایـن عامـل به خاکسـتر و اسـیدهای موجود در عسـل بسـتگی دارد و هـر چـه مقـدار این دو ماده بیشـتر باشـد هدایـت الکتریکی عسـل بیشـتر اسـت. هدایـت الکتریکـی و درصـد جرمی خاکسـتر عسـل دارای رابطـه خطـی (رابطه (۱)) هسـتند:

رابطه (۱) $C = 0.14 + 1.74\ A$

کـه در آن: C نشـان‌دهنده میـزان هدایت و A میزان خاکسـتر بر حسـب گرم درصد اسـت.

حداکثـر مقـدار پیشـنهادی طبـق اسـتاندارد ملـی ایـران برای هدایـت عسـل، ۰/۸ میلـی زیمنـس برسـانتی‌متر اسـت.

پلی فنل

پلـی فنـل موجـود در عسـل مطابـق بـا اسـتاندارد ۱-۸۹۸۶، هماننـد تعییـن مقـدار کل پلـی فنل‌هـای موجـود در چای سـبز و سـیاه بـه روش رنگ سـنجی با اسـتفاده از معرف صـورت می‌گیرد [۱۲]. پلـی فنل‌هـای موجـود در عسـل بـه روش رنگ‌سـنجی و بـا اسـتفاده از معـرف فولیـن دنیز-سـیکالتو، اندازه‌گیری می‌شـود. معـرف فولیـن دنیز-سـیکالتو (یـا واکنشـگر فولیـن فنـول یا روش تعیین هم‌ارزی گالیک اسـید) مخلوطی از فسـفومولیبدات و فسـفو تنگسـتات اسـت کـه بـرای سـنجش آنتـی اکسـیدان‌های فنولی و پلی‌فنولـی بـه روش رنگ‌سـنجی اسـتفاده می‌شـود. این واکنشـگر

فقط برای اندازه‌گیری فنول نیست بلکه با هرگونه مواد احیا شونده؛ واکنش می‌دهد و در پایان، یک رنگ آبی ایجاد می‌کند که حداکثر جذب آن در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. از گالیک اسید به‌عنوان ترکیبی برای اندازه‌گیری پلی فنل‌ها در تهیه منحنی استاندارد استفاده می‌شود.

سرب و کادمیوم

اندازه‌گیری سرب و کادمیوم موجود در عسل مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲۶۶ و با عنوان «مواد غذایی- اندازه‌گیری مقدار سرب، کادمیوم، مس، آهن و روی-روش طیف‌سنجی نوری جذب اتمی» صورت می‌گیرد [۱۳]. در این روش، ابتدا نمونه خشک شده و سپس با افزایش تدریجی دما تا محدوده ۵۰±۵۰۰ درجه سلسیوس، به خاکستر تبدیل می‌شود. پس از افزودن اسید کلریدریک و سپس تبخیر اسید، باقی مانده در اسید نیتریک ۰/۱ مولار حل شده و تعیین مقدار عناصر توسط طیف‌سنجی جذب اتمی با استفاده از شعله و کوره گرافیتی انجام می‌شود.

میکروبیولوژی

عسل معمولاً به دلیل ترکیب شیمیایی آن، به خصوص مقدار زیاد شکر و مقدار کم آب در مدت زمان طولانی قابل نگهداری است و فقط مخمرهای اسموفیلک می‌توانند آن را آلوده و در آن ایجاد کف نمایند. این پدیده را جوانه‌زدن عسل نامیده و هم در عسل موم‌دار و هم در محصولات تصفیه شده مشاهده می‌شود. آلودگی معمولاً از سطح عسل پر شده در ظروف شروع و سپس افزایش می‌یابد. این آلودگی بعد از گذشت مدتی می‌تواند در قسمت‌های داخلی هم رشد نماید. طعم و بوی عسل کف آلود کاملاً با عسل معمولی متفاوت است، ولی تغییرات قابل اثبات از طریق آنالیز شیمیایی بسیار مشکل است. تخمیر کف مانند عسل یک تخمیر الکلی و با جریان بسیار کند است که عامل آن مخمرهای اسموفیلک هستند و کف حاصل به دلیل تشکیل دی‌اکسید کربن در اثر تخمیر است. در این فرآیند، دکربوکسیلاسیون اسید فرمیک نقش زیادی ندارد و الکل به دلیل تصاعد در ظروف غیرقابل نفوذ به مقدار کم یافت می‌شود. همان‌گونه که پیشتر هم ذکر شد، حداکثر آب در عسل ۲۰ درصد است که با قابلیت جذب رطوبت در سطح، منطقه رقیق شده‌ای تشکیل می‌شود که می‌تواند محیط مناسبی برای رشد مخمرهای اسموفیلک فراهم کند. همچنین جریان تنفسی سلول‌های مخمر موجب تشکیل آب می‌شود که این امر می‌تواند باعث تغییر یک بخش از گلوکز از حالت بلوری شود، در نتیجه فعالیت آبی عسل افزایش یافته و محیط برای رشد موجودات ذره‌بینی مناسب‌تر می‌شود. جدول (۳)، ویژگی‌های استاندارد میکروبیولوژی انواع عسل، مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۷۶۱۰ را نمایش می‌دهد [۱۴].

جدول (۳): ویژگی‌های استاندارد میکروبیولوژی انواع عسل [۱۴].

ردیف	ویژگی‌ها	بیشینه مقدار مجاز
۱	شمارش اسپورکلستریدیوم احیاء کننده سولفیت	منفی
۲	مخمرهای اسموفیلیک	۱۰
۳	کپک	$۱۰^{۲}$

شمارش مخمرهای اسموفیلیک باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۳۱۹۶ [۱۵]، و شمارش کپک باید مطابق با استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹ [۱۶]، انجام پذیرد.

آلاینده‌ها

میزان باقی‌مانده داروهای دامی و آفت‌کش‌ها در عسل باید مطابق با قوانین و مقررات مراجع ذی‌صلاح کشور باشد. براساس استاندارد ۲-۹۰۳۷ باقی‌مانده آفت‌کش‌ها بیشتر با استفاده از حلال مناسب از آزمونه به‌گونه‌ای استخراج می‌شود که بیشترین مقدار استخراج با حداقل مواد تداخل‌کننده همراه باشد [۱۷]. سایر مواد تداخل کننده باید توسط روش‌های مناسب از عصاره حذف شوند تا محلول استخراجی نهایی برای آزمون کمی (مطابق با استاندارد ملی ایران به شماره ۱۷۰۲۶) به روش کروماتوگرافی گازی - طیف‌سنج جرمی و یا کروماتوگرافی مایع - طیف‌سنجی جرمی متوالی [۱۸]، آماده شود.

نتیجه‌گیری

عسل یک محصول غذایی مفید و یک اکسیر پر ارزش است که از قرن‌ها پیش به‌عنوان یکی از عالی‌ترین و مقوی‌ترین غذاها شناخته شده و همچنین به واسطه ویژگی‌های شفابخش خود به‌عنوان دارو در درمان بیشتر بیماری‌ها در بین تمام ملل کاربرد داشته است و تقلب در عسل و آزمون‌های تشخیصی آن اهمیت بالایی دارد. با توجه به عدم قطعیت در آنالیز عسل و تقلب‌های گسترده توسط افراد سود جو، استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲، با هدف معرفی ویژگی‌های اصالت‌سنجی، کیفیت و ایمنی، آلاینده‌ها، نمونه‌برداری، روش‌های آزمون و نشانه‌گذاری انواع عسل، منتشر شد و برای هشتمین بار در سال ۱۳۹۸ مورد تجدید نظر قرار گرفت. انجام این آزمون‌ها علاوه بر کاهش میزان تقلبات این محصول به تشخیص عسل‌های با کیفیت و قیمت‌گذاری آن کمک می‌کند.

پی‌نوشت

۱. دکتری شیمی آلی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
۲. کارشناس ارشد شیمی آلی، بخش تحقیقات گیاهان دارویی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
۳. عضو کارگروه تخصصی کروماتوگرافی

4. Hydroxymethylfurfural (HMF)
5. Gas chromatography (GC)
6. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
7. International Honey Commission (IHC)
8. refractive index
9. osmophitic yeast

مراجع

[۱] استاندارد ملی ایران شماره ۹۲، سال ۱۳۹۸، عسل – ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.

[2] https://www.chemistrylearner.com/fehlings-solution.html

[3] Rhimi, M., R. Haser, and N. Aghajari, Bacterial sucrose isomerases: Properties and structural studies. Biologia, 2008. 63: p. 1020-1027.

[۴] استاندارد ملی ایران شماره ۱۳۰۵۹، سال ۱۳۸۹، عسل - اندازه‌گیری قندها به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا.

[۵] استاندارد ملی ایران شماره ۱۱۱۴۵، سال ۱۳۸۷، عسل - تعیین میزان پرولین.

[6] https://byjus.com/chemistry/ninhydrin-test/

[7] Kowalski, S., et al., Dynamics of 5-hydroxymethylfurfural formation in shortbreads during thermal processing. Czech Journal of Food Sciences, 2013. 31(1): p. 33-42.

[8] Zappala, M., et al., Methods for the determination of HMF in honey: a comparison. Food control, 2005. 16(3): p. 273-277.

[9] White Jr, J.W., Spectrophotometric method for hydroxymethylfurfural in honey. Journal of the Association of Official Analytical Chemists, 1979. 62(3): p. 509-514.

[۱۰] استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۰۴۸، سال ۱۳۸۸، عسل - اندازه‌گیری هیدروکسی متیل فورفورال - روش فتومتری وینکلر.

[۱۱] استاندارد ملی ایران شماره ۱۲۱۸۶، سال ۱۳۸۸، عسل - اندازه‌گیری هیدروکسی متیل فوفورال - روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا.

[۱۲] استاندارد ملی ایران شماره ۱-۸۹۸۶، سال ۱۳۸۵، چای سبز و سیاه – اندازه‌گیری مواد اختصاصی آن - قسمت اول - تعیین مقدار کل پلی فنل‌ها - روش رنگ‌سنجی با استفاده از معرف.

[۱۳] استاندارد ملی ایران شماره ۹۲۶۶، سال ۱۳۸۶، مواد غذایی – اندازه‌گیری مقدار سرب، کادمیم، مس، آهن و روی - روش طیف‌سنجی نوری جذب اتمی.

[۱۴] استاندارد ملی ایران شماره ۷۶۱۰، سال ۱۳۸۶، میکروبیولوژی عسل – ویژگی‌ها و روش‌های آزمون.

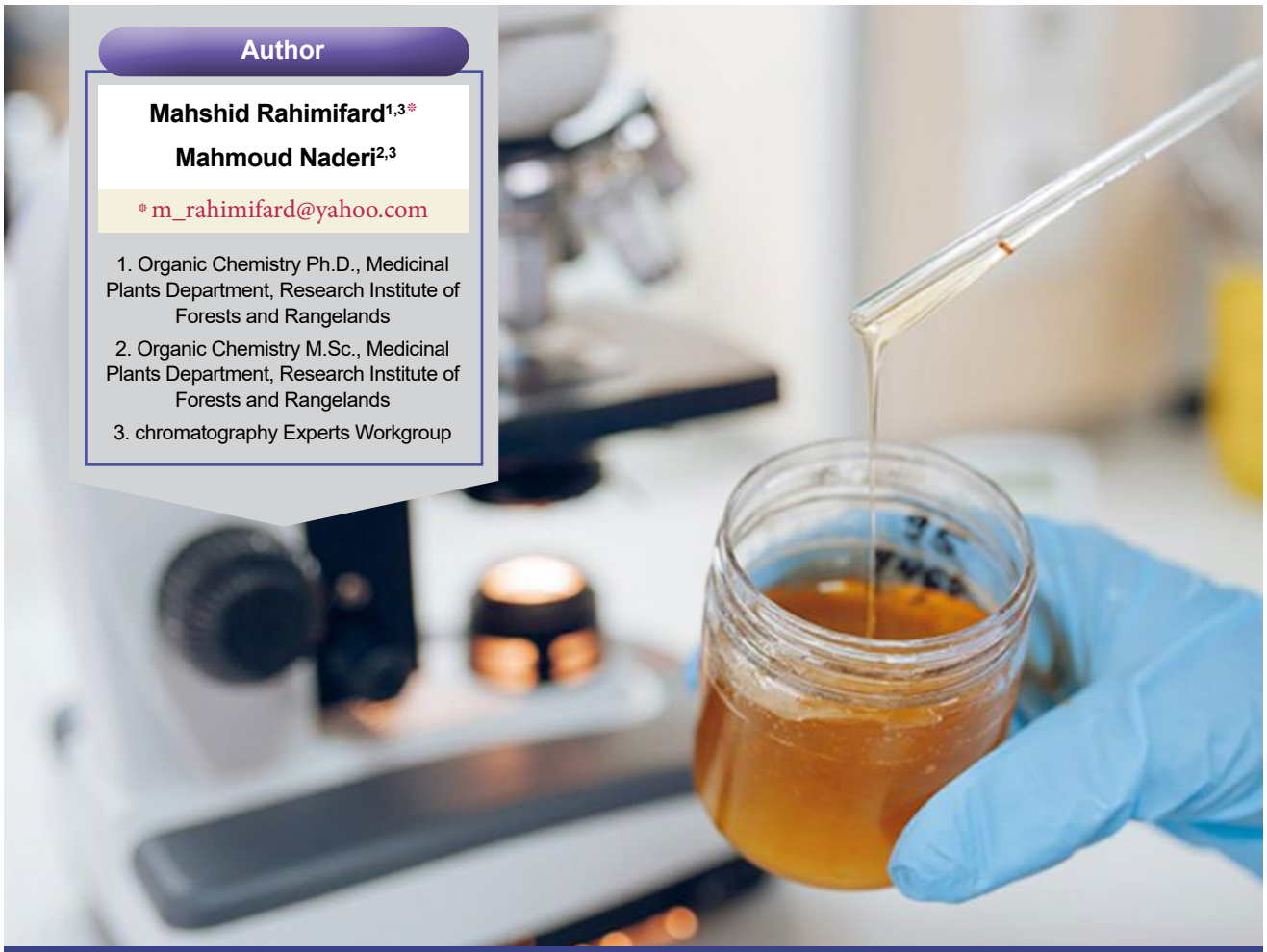
[۱۵] استاندارد ملی ایران شماره ۳۱۹۶، سال ۱۳۸۴، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام – مخمرهای اسموفیلیک - روش شمارش.

[۱۶] استاندارد ملی ایران شماره ۱-۱۰۸۹۹، سال ۱۳۸۷، میکروبیولوژی مواد غذایی و خوراک دام - روش جامع برای شمارش کپک‌ها و مخمرها - قسمت اول - روش شمارش کلنی در فرآورده‌های با فعالیت آبی (AW) بیشتر از ۰/۹۵.

[۱۷] استاندارد ملی ایران شماره ۲-۹۰۳۷، سال ۱۳۹۳، آفت‌کش‌ها – اندازه‌گیری میزان مانده آفت‌کش‌ها در غذاهای با منشا گیاهی به روش چند مانده‌ای با استفاده از کروماتوگرافی گازی- قسمت ۲ – روش‌های استخراج و تصفیه.

[۱۸] استاندارد ملی ایران شماره ۱۷۰۲۶، سال ۱۳۹۲، مواد غذایی با منشاء گیاهی- اندازه‌گیری میزان باقی مانده آفت‌کش‌ها به روش کروماتوگرافی گازی/ طیف‌سنجی جرمی - و یا کروماتوگرافی مایع/ طیف‌سنجی جرمی متوالی پس از استخراج - جداسازی استو نیتریلی و پاکسازی با فاز جامد پخشی (dispersive) -روش کچرز - روش آزمون.

No.33 ■ Spring 2021 ■ Issue 1 ■ Volume 9
Iranian Journal of Laboratory Knowledge



Author

Mahshid Rahimifard[1,3*]

Mahmoud Naderi[2,3]

* m_rahimifard@yahoo.com

1. Organic Chemistry Ph.D., Medicinal Plants Department, Research Institute of Forests and Rangelands
2. Organic Chemistry M.Sc., Medicinal Plants Department, Research Institute of Forests and Rangelands
3. chromatography Experts Workgroup

Honey quality tests in accordance with Iranian national standards

Abstract

The most valid method for determining the quality of honey and knowing its purity is laboratory methods. Analyzing natural honey is not an easy and fast method, and even despite the claims of some centers, the diagnosis of natural honey, confirmation of the quality of honey and validation of its analysis data is still controversial. However, factors such as measuring the percentage of reducing sugars and sucrose, measuring fructose to glucose ratio, measuring hydroxymethyl furfural (HMF), determining the amount of diastase activity, measuring proline, moisture, free acidity, conductivity, ash and pesticide residues of Honey are some factors that can be done using common laboratory equipments such as pH meters, conductivity meters and furnaces to more specific equipments such as spectrophotometers, gas chromatograph (GC) and high performance liquid chromatograph (HPLC) which allows producers and consumers to be aware of the quality of the honey. In this article, we introduce tests and acceptable limits for natural honey by introducing laboratory tests and reviewing the national standards of Iran.

Keywords

reducing sugars, sucrose, hydroxymethyl furfural (HMF), diastase activity, proline, honey.

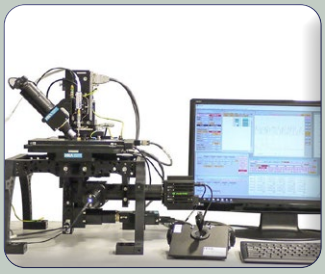
Iran Nanotechnology Laboratory Network

Iranian Journal of laboratory Knowledge

ISSN 2538-3450

Volume 9 ■ Issue 1 ■ Spring 2021 ■ No.33

What is the High-Throughput Screening (HTS) test method?



The Application of scanning electrochemical microscope in the study of corrosion of metals

Status and importance of Iran Accreditation System and general structure of certification of conformity for testing and calibration laboratories based on National Accreditation Center of Iran requirements

Honey quality tests in accordance with Iranian national standards

Introduction of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method

www.IJLK.ir
info@ijlk.ir