



تشخیص و دسته‌بندی انواع نمونه عسل با استفاده از طیف‌سنجی FTIR و تحلیل آماری چندمتغیره

مریم بحرینی*، ریحانه نبی زاده اربابی و نسترن راگردی کاشانی

دانشکده فیزیک، دانشگاه علم و صنعت ایران، تهران

پست الکترونیکی: M_Bahreini@iust.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۱۰/۲۰؛ دریافت نسخه نهایی: ۱۴۰۱/۴/۲۲)

چکیده

عسل یک ماده غذایی شیرین و طبیعی است که توسط زنبورهای عسل تولید می‌شود و عمدتاً از قند تشکیل شده است. عسل همچنین منبع غنی اسیدهای آمینه، ویتامین‌ها، مواد معدنی و سایر ترکیبات فعال بیولوژیکی است. این ویژگی‌ها باعث کاربرد گسترده عسل می‌شود و تقاضای استفاده از عسل را در سرتاسر جهان افزایش می‌دهد. بنابراین اطمینان از اصل یا تقلبی بودن عسل بسیار مورد اهمیت قرار می‌گیرد. در این مقاله روش طیف‌سنجی فروقرمز تبدیل فوریه (FTIR) برای تحلیل ۶ نمونه مختلف عسل از عسل چهل‌گیا، عسل زیروفن در غلظت‌های آبی ۱۰٪، ۳۰٪ و ۵۰٪، و ۲ نمونه شربت گلوکز با غلظت‌های ۱۰٪ و ۳۰٪ به کار می‌رود که طیف‌های به دست آمده با استفاده از تحلیل آماری چندمتغیره، طبقه‌بندی و تجزیه و تحلیل می‌شوند. طبقه‌بندی داده‌های خروجی نشان‌دهنده تفکیک مناسب بین عسل اصل و شربت گلوکز است. این مقاله با هدف ارائه یک روش طبقه‌بندی ارزان، سریع و دقیق برای احراز هویت عسل انجام شده و نشان می‌دهد که روش FTIR-ATR به همراه تحلیل آماری چندمتغیره، یک ابزار مفید برای آزمایش اصالت عسل است.

واژه‌های کلیدی: تحلیل آماری چندمتغیره، طیف‌سنجی فروقرمز تبدیل فوریه، عسل

۱. مقدمه

مولکول بزرگ‌تر (دی ساکاریدها) مثل قند چغندر یا نیشکر پیش از جذب در خون، در روده‌های باریک تحت تأثیر آنزیم‌هایی به قندهای ساده تجزیه می‌شوند تا جذب شوند. این خاصیت جذب سریع قندهای ساده‌ی موجود در عسل در درمان بیماری‌های زیادی مؤثر است. برخی عسل‌های تقلبی بدون استفاده از زنبور عسل و با غلیظ کردن آب شکر، اضافه کردن اسانس به آن و ... تولید می‌-

در ترکیب عسل بیش از ۱۸۱ ماده مختلف وجود دارد اما اساس عسل از گلوکز، فروکتوز و مونوساکاریدها (قندهای ساده) ساخته شده است؛ یعنی حدود ۹۹/۹ تا ۹۵ درصد از مواد جامد آن را این قندها تشکیل می‌دهند. این قندهای ساده در بدن بلافاصله جذب می‌شوند. این در حالی است که قندهای با

۴۰۰۰-۴۵۰ حاوی اطلاعات ناشی از ارتعاشات مولکولی است و نسبت به حالات شیمیایی و فیزیکی نمونه حساس است که به تشخیص نمونه‌های مختلف با غلظت و ترکیب متفاوت کمک می‌کند. علاوه بر این، این روش یک تکنیک غیر مخرب است. طیف‌سنجی فروسرخ یکی از مهم‌ترین روش‌های طیف‌سنجی ارتعاشی است که از آن می‌توان برای مطالعه اغلب نمونه‌ها در حالت‌های مختلف به ویژه برای نمونه‌های مایع و محلول‌ها استفاده کرد. در ناحیه طیفی مادون قرمز، جذب نور به وسیله یک ماده، ناشی از برهمکنش میان ارتعاشات پیوندهای شیمیایی نمونه و تابش ناشی از منبع نور است [۱۱]. طیف‌سنج‌های مادون قرمز با چشمه‌های پهن باند گستره وسیع بسامدی دارند. محدوده مادون قرمز به سه بخش مادون قرمز نزدیک ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$)، مادون قرمز میانی ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) و مادون قرمز دور ($100 - 400 \text{ cm}^{-1}$) تقسیم بندی می‌شود.

ناحیه مادون قرمز میانی ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) را به طور تقریبی می‌توان به چهار زیر بخش تقسیم‌بندی کرد که ماهیت هر بسامد گروه توسط ناحیه‌ای که در آن واقع شده، شناخته می‌شود. محدوده $400 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ ناحیه اثر انگشت، محدوده $1500 - 2000 \text{ cm}^{-1}$ ناحیه پیوند دوگانه، محدوده $2000 - 2500 \text{ cm}^{-1}$ ناحیه پیوند سه گانه و محدوده $2500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ ناحیه ارتعاش کششی است. در این مقاله روش طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR-ATR) برای تحلیل ۶ نمونه مختلف از عسل چهل گیاه و عسل زیروفن در غلظت‌های آبی ۱۰٪، ۳۰٪ و ۵۰٪، و شربت گلوکز با غلظت‌های ۱۰٪ و ۳۰٪ به کار می‌رود. از شربت گلوکز به عنوان نمونه تقلبی در مقایسه با عسل طبیعی و دارویی استفاده می‌شود. طیف‌های به دست آمده با استفاده از تحلیل آماری چند متغیره، طبقه‌بندی و تجزیه و تحلیل می‌شوند و میزان کارآمدی این روش را بررسی خواهیم کرد.

۲. مواد و روش‌ها

الف) نمونه‌ها

برای نمونه‌های عسل طبیعی از دو نوع عسل چهل گیاه و عسل دارویی زیروفن، و برای نمونه تقلبی از شربت گلوکز

شود. یکی از شیرین‌کننده‌هایی که به عسل‌های تقلبی اضافه می‌شود شربت بار، شربت ذرت و شربت گلوکز است. نوع دیگر عسل نامرغوب، عسلی است که توسط خوراندن محلول آب و شکر به زنبور عسل تولید می‌شود که در این حالت به علت آن که زنبور عسل به آن دیاستاز اضافه می‌کند امکان شکرک زدن یا رس کردن را دارد. این نوع عسل از خواص موجود در شهد گل‌ها که عمده خواص دارویی عسل است محروم است. اغلب تقلبات عسل با استفاده از شیرین‌کننده‌هایی مثل شربت گلوکز انجام می‌شود چون امکان دسترسی به آن برای تولیدکنندگان عسل بیشتر از سایر محلول‌های قندی است و از نظر اقتصادی و زمانی نیز مقرون به صرفه است [۱-۳].

بنابراین بررسی و تشخیص عسل اصل از تقلبی برای امنیت غذایی و استفاده از خواص دارویی عسل بسیار ارزشمند است. برای بهبود روش‌های تحلیلی سریع برای کنترل کیفیت عسل، توسعه روش‌های ساده و دقیق برای تجزیه و تحلیل عادی عسل ضروری است. در گذشته تقاضا برای روش‌های تحلیلی جدید و سریع برای ارزیابی پارامترهای مختلف در صنایع غذایی وجود داشته است. طیف‌سنجی مادون قرمز نزدیک، زبان پتانسیومتری^۱، تشدید مغناطیسی هسته، زیموگرافی^۲، رمزگذاری DNA^۳، روش‌های کمومتریک^۴، طیف‌سنجی جرمی، PCR^۵ و ... از انواع روش‌های تحلیل عسل هستند [۴-۶].

از بین انواع روش‌ها، تکنیک‌های طیف‌سنجی نوری از دقت خوبی برخوردار هستند و با صرف زمان و هزینه کمی نسبت به سایر روش‌ها مزیت‌های زیادی در تحلیل انواع مواد دارند [۷-۱۰]. طیف‌سنجی مادون قرمز تبدیل فوریه (FTIR) یک روش پذیرفته شده برای ارزیابی اجزای مختلف مواد غذایی است که نیازی به آماده‌سازی وقت‌گیر نمونه و یا معرف‌های گران قیمت ندارد. تکنیک طیف‌سنجی مادون قرمز یک ابزار قدرتمند در کنترل کیفیت و تعیین سریع تجزیه و تحلیل ویژگی‌های مختلف در نمونه‌های متعدد مواد غذایی است. ناحیه مادون قرمز میانی در واقع از cm^{-1}

۱. Potentiometric tongue

۲. Zymography

۳. DNA metabarcoding

۴. Chemometric techniques

۵. Polymerase chain reaction

این مقاله برای دسته‌بندی نمونه‌ها، تابع تشخیصی^۱ نام دارد که یک روش تحلیل آماری چند متغیره است و راهکاری است برای آن که متغیرها را در قالب گروه‌های مجزا از هم تفکیک کنیم. در واقع، تحلیل تشخیصی، نمونه‌ها را در قالب گروه‌های مجزا از هم طبقه‌بندی و تفکیک می‌کند، به گونه‌ای که نمونه‌ها در هر گروه با یکدیگر شبیه باشند و در گروه‌های مختلف نسبت به یکدیگر کمترین شباهت را داشته باشند. تحلیل تابع تشخیصی یکی از روش‌های آماری است که به طور همزمان از چند متغیر برای تشخیص اختلاف بین دو گروه استفاده می‌کند. این روش به دنبال پیدا کردن این است که هر داده مربوط به کدام گروه است. برای پیش‌بینی عضویت در هر گروه، از متغیرهای مستقل (پیشگویی‌کننده) استفاده می‌کند. با ساختن توابع تفکیکی^۲، شباهت‌های کوچک بین واریانس متغیرهای وابسته را می‌یابد. با دادن یک نمره به هر متغیر وابسته، متغیرهای وابسته را طبقه‌بندی می‌کند. سپس، نمره هر متغیر ترسیم می‌شود [۱۴].

تابع تشخیصی که به ریشه کانونی نیز معروف است، ترکیب خطی متغیرهای مستقل استاندارد شده است که بزرگ‌ترین تفاوت‌های میانگین بین گروه‌ها را نشان می‌دهد. در واقع، در تحلیل تشخیصی، یک تابع بر اساس مرکز ثقل گروه‌ها (میانگین‌ها) ایجاد می‌شود، طوری که گروه‌ها کمترین همپوشانی را با همدیگر داشته باشند. تابع تشخیصی، قلب تحلیل تشخیصی است و آن را با DF یا X_D نشان می‌دهند. تابع تشخیصی هم از طریق حداقل مجذورات معمولی و هم از طریق برآورد حداکثر درست‌نمایی^۳ محاسبه می‌شود. امتیاز تشخیصی^۴ نیز مقداری است که در نتیجه به کار بردن فرمول تابع تشخیصی برای داده‌های مربوط به یک نمونه مشخص به دست می‌آید. با داشتن تابع تشخیصی، می‌توان مقدار امتیاز مربوط به هر نمونه را محاسبه کرد؛ به عبارت دیگر با داشتن یک تابع تشخیصی، به تعداد نمونه‌ها، از این تابع، اعداد خروجی وجود دارد. در آرمانی‌ترین حالت و وقتی که بین دو گروه تفاوت آشکار و واضحی وجود دارد، دسته‌بندی که از

استفاده شد. برای تهیه نمونه‌ها در سه غلظت ۱۰٪، ۳۰٪ و ۵۰٪ مطابق با مراجع موجود، مقادیر مشخص از عسل (چهل گیاه و زیروفن) و آب در نسبت‌های ذکر شده، ترکیب شدند. همچنین شربت گلوکز نیز در دو غلظت ۱۰٪ و ۳۰٪ تهیه شد [۱۲ و ۱۳]. هر کدام از نمونه‌ها در حجم ۱۰ سی سی تهیه شد. برای آماده‌سازی محلول ۱۰ در صد، حجم ۹ سی سی آب و ۱ سی سی عسل مورد نظر را در بشر ترکیب کردیم. به همین ترتیب برای محلول ۳۰ درصد، حجم ۷ سی سی آب و ۳ سی سی عسل، و برای محلول ۵۰ درصد، حجم ۵ سی سی آب و نیز ۵ سی سی عسل را ترکیب کردیم. در نهایت محلول را به خوبی هم‌زدیم تا کاملاً همگن شود

ب) روش طیف سنجی

تحلیل FTIR بر اساس جذب تابش و برانگیختگی در ترازهای انرژی ارتعاشی مولکول‌ها و یون‌های چند اتمی صورت می‌گیرد. در ناحیه طیفی مادون قرمز، جذب نور به وسیله یک ماده، ناشی از برهمکنش میان ارتعاشات پیوندهای شیمیایی نمونه و تابش ناشی از منبع نور است. در تکنیک ATR از خواص بازتاب داخلی کل استفاده می‌شود. تابش مادون قرمز از کریستال ATR عبور می‌کند به گونه‌ای که حداقل یک بار از سطح داخلی در تماس با نمونه منعکس شود. عمق نفوذ تابش به نمونه معمولاً بین ۰/۵ تا ۲ میکرومتر است که مقدار دقیق آن به طول موج نور، زاویه تابش و شاخص‌های بازتاب برای کریستال ATR و مشخصات نمونه بستگی دارد. در این پژوهش با استفاده از دستگاه (THERMO NICOLET) طیف‌سنج FTIR-ATR از ۸ نمونه محلولی که تهیه شده بود طیف گرفته شد. برای این کار از هر نمونه، یک قطره درون دستگاه قرار داده شد و توسط اپراتور طیف آن نمونه گرفته شد.

ج) روش تحلیل آماری چند متغیره

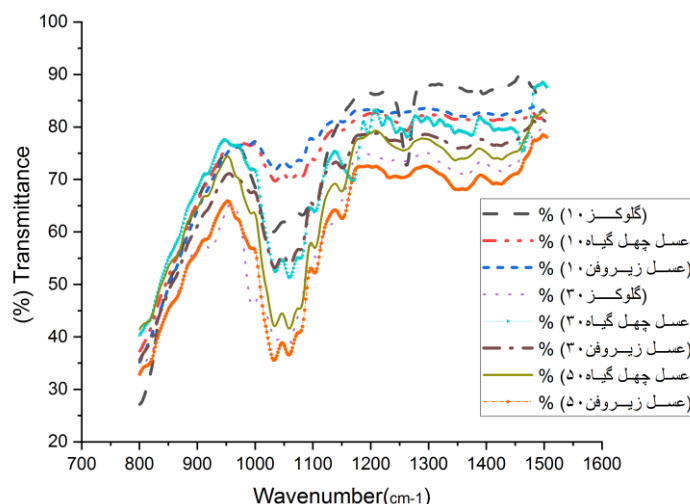
در این قسمت به معرفی روش تحلیل و دسته‌بندی داده‌های حاصل از طیف‌سنجی می‌پردازیم. روش تحلیل داده‌های مورد استفاده در

۱. Discriminant function (DF)

۲. Discriminant Functions

۳. Maximum likelihood estimation (MLE)

۴. Discriminant score (DS)



شکل ۱. نمودار مربوط به طیف FTIR-ATR تمام نمونه‌ها.

اختلاف بین گروه‌ها به بیشترین مقدار خود برسد [15]. در این مقاله برای تحلیل آماری از نرم افزار spss استفاده شده است.

۳. نتایج و بحث

تحلیل کیفی

به منظور بررسی کیفیت و تشخیص تقلبی یا اصل بودن عسل، مطالعه طول موج جذبی یا عبوری در طیف‌سنجی FTIR-ATR برای سه نمونه مختلف عسل چهل گیاه، زیروفن و شربت گلوکز به کار گرفته شد. مطالعه فوق ساختار پیوندهای شیمیایی ماده و گروه‌های عاملی را نشان می‌دهد و از روی گروه‌های عاملی می‌توان مولکول‌های تشکیل دهنده ماده را شناسایی کرد و در نتیجه به غلظت مواد تشکیل دهنده عسل و کیفیت آن پی برد. در شکل ۱ نمودار مربوط به طیف FTIR-ATR تمام نمونه‌ها آورده شده است. طول موج جذبی تمام گروه‌های عاملی در جدول ۱ آمده است.

نقاط جذبی گروه‌های عاملی روی طیف یکی از نمونه‌ها در شکل ۲ مشخص و در جدول ۲ هم آورده شده است. در طیف FTIR-ATR عسل، منطقه ۸۰۰ تا ۱۵۰۰ cm^{-1} (که در شکل ۳ نشان داده شده است)، مربوط به مناطق جذب ۳ ماده اصلی قند عسل (فروکتوز، گلوکز و ساکاروز) است [۱۶]. با توجه به جدول،

هر گروه به دست می‌آیند انحراف معیار پایینی داشته درحالی‌که بین مقدار میانگین دو گروه، اختلاف زیادی وجود دارد. با داشتن مقدار تابع یک نمونه مجهول، به راحتی می‌توان وضعیت عضویت آن را در دو گروه مشخص کرد. نقطه تمایز یا برش هم در این تحلیل مهم است. پیش‌زمینه درک مفهوم نقطه تمایز یا برش، درک مفهوم مرکز ثقل^۱ است؛ بنابراین، قبل از توضیح مفهوم نقطه تمایز، بهتر است مفهوم مرکز ثقل را تشریح کنیم. مرکز ثقل، مقدار میانگین نمره تشخیصی برای هر طبقه (گروه) از متغیر وابسته است؛ بنابراین، به ازای تعداد طبقات یا گروه‌های متغیر وابسته، تعدادی مرکز ثقل خواهیم داشت.

همان طور که گفته شد تحلیل تشخیصی روشی است برای ترکیب کردن متغیرهای مستقل (که در اینجا داده‌های طیفی هر نمونه است) برای ایجاد یک متغیر جدید به نام تابع تشخیص که با استفاده از متغیرها، برای آن مقدار به دست می‌آید. در واقع تابعی است که از ترکیب خطی l متغیر حاصل می‌شود.

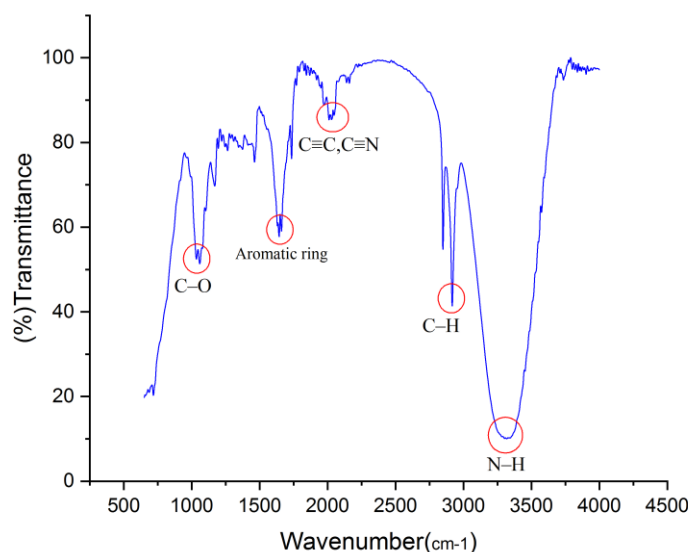
$$X_D = \sum_{i=1}^l b^i x^i$$

در رابطه بالا x^i متغیر i ام است و b^i ها ضرایب ثابتی به نام ضرایب تشخیص هستند که باید به گونه‌ای محاسبه شوند تا

۱. Centroid

جدول ۱. طول موج جذبی گروه‌های عاملی.

جذب (cm ⁻¹)	گروه عاملی	جذب (cm ⁻¹)	گروه عاملی	جذب (cm ⁻¹)	گروه عاملی
۳۵۰۰-۳۳۰۰	NH(آمین)	۸۰۰-۶۰۰	CCI(آلکین هالید)	۲۹۶۰-۲۸۵۰	CH(آلکان)
۱۲۳۰-۱۰۳۰	CN(آمین)	۶۰۰-۵۰۰	CBr(آلکین هالید)	۳۱۰۰-۳۰۲۰	CH(آلکن)
۱۷۸۰-۱۶۷۰	CO(کربونیل)	۳۶۵۰-۳۴۰۰	OH(الکل)	۱۶۸۰-۱۶۴۰	CC(آلکن)
۳۱۰۰-۲۵۰۰	OH(اسیدکربوکسیلیک)	۱۱۵۰-۱۰۵۰	CO(الکل)	۳۳۰۰	CH(آلکین)
۲۲۶۰-۲۲۱۰	CN(نیتریل)	۳۰۳۰	CH(آرن)	۲۲۶۰-۲۱۰۰	CC(آلکین)
۱۵۴۰	NO ₂ (نیترو)	۲۰۰۰-۱۶۶۰	حلقه آروماتیک		



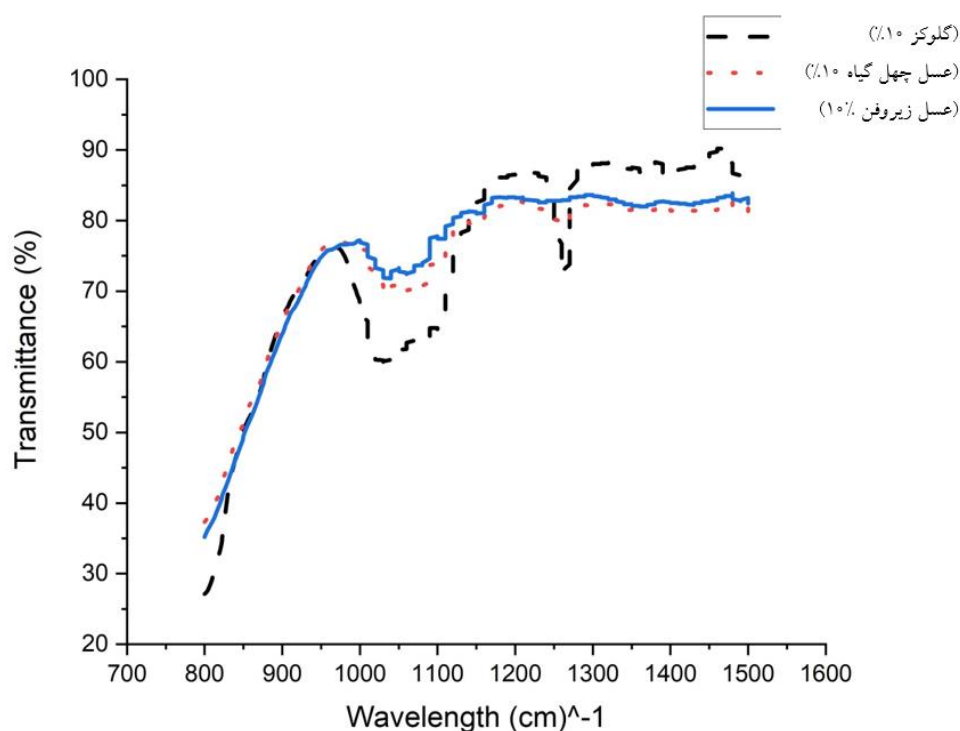
شکل ۲. نمودار طیف FTIR-ATR از نمونه محلول ۳۰٪ عسل چهل گیاه. نقاط جذبی گروه‌های عاملی در تصویر مشخص شده است.

جدول ۲. طول موج جذبی گروه‌های عاملی مربوط به شکل ۲.

گروه عاملی	طول موج
C-O	۱۰۵۹/۴۶
حلقه آروماتیک	۱۶۴۲/۴۵
C≡C, C≡N	۲۰۱۰/۳۷
C-H	۲۹۱۷/۶۶
N-H	۳۳۱۸/۵۶

است که منشأ و شهد گرده گونه‌های زنبور را نشان می‌دهد. جذب زیاد مولکول‌های آب در ۱۶۴۰ تا ۱۶۵۰ cm⁻¹ نشان‌دهنده تفاوت در پروتئین و رطوبت و فعل و انفعالات آب و کربوهیدرات، بین گروه‌های نمونه است. منطقه بسامدی گروه ۲۸۰۰ تا ۳۰۰۰ cm⁻¹

منطقه ۷۵۰-۹۰۰ cm⁻¹ ناحیه ناهنجاری است و از مشخصات پیکربندی ساکارید است. ارتعاشات منطقه ۱۶۰۰-۱۷۰۰ cm⁻¹ ارتعاشات پروتئین امید هستند و این نمادها در نتیجه کشش گروه کربونیل C=O و C≡C هستند که مربوط به مولکول‌های فنلی



شکل ۳. نمودار مقایسه طیف FTIR-ATR مربوط به نمونه‌های با غلظت ۱۰٪ عسل چهل گیاه، عسل زیروفن و شربت گلوکز در محدوده ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} .

ATR مربوط به ۳ نمونه با غلظت های یکسان از عسل چهل-گیاه، عسل زیروفن و شربت گلوکز در محدوده ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} (که نشان‌دهنده جذب ۳ ماده اصلی قند عسل است)، در شکل ۳ آمده است. با توجه این شکل اختلافات کمی قابل مشاهده هستند. برای تفکیک و طبقه‌بندی دقیق سه گروه نمونه با استفاده از داده‌های خروجی طیف سنجی نمونه‌ها، از تحلیل آماری چندمتغیره استفاده کردیم. نتایج حاصل از مدل طبقه‌بندی عسل اصل (چهل گیاه و زیروفن) و تقلبی (شربت گلوکز) در شکل‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است.

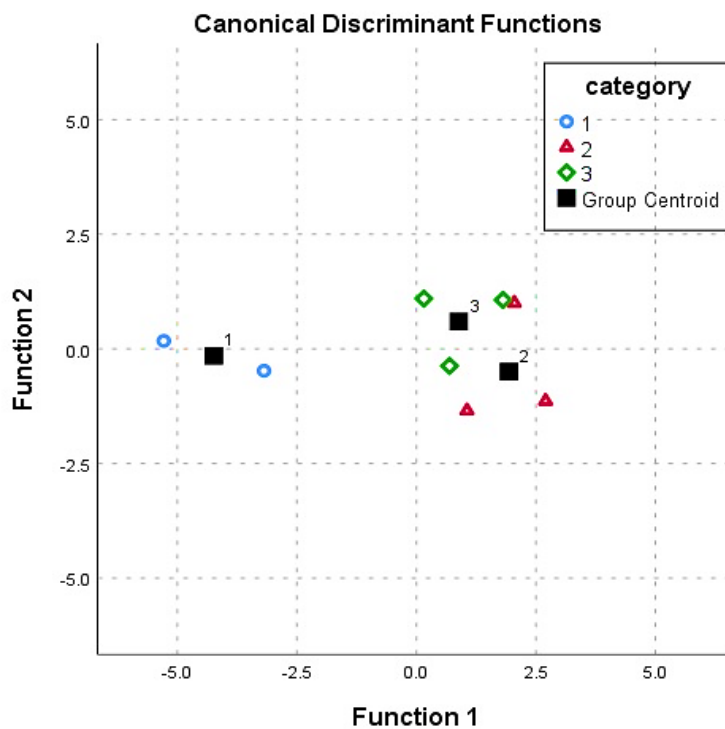
نتایج طبقه بندی نشان داده شده در شکل ۴ با استفاده از داده‌های خروجی FTIR-ATR در بازه عدد موج 3000 تا 4000 cm^{-1} ، و در شکل ۵ با استفاده از داده‌های خروجی 800 تا 1500 cm^{-1} انجام شده است (این بازه‌ها در شکل ۱ نشان داده شده‌اند). در این شکل‌ها هر نقطه، امتیاز تابع تشخیصی مربوط به هر نمونه، به دست آمده از تابع تشخیص ساخته شده با داده‌های

جذب ترکیبات $C-H$ و $C-C$ را نشان می‌دهد که بین تمام ترکیبات آلی رایج است [۱۷، ۱۸] و محدوده ۲۵۰۰ تا 4000 cm^{-1} مربوط به ارتعاشات کششی $N-H$ و $C-H$ ، $O-H$ است. این ناحیه نمودار نمونه‌های ما نشان‌دهنده جذب بیشتر در محدوده ۳۳۰۰ تا 3400 cm^{-1} است که مربوط به ارتعاش کششی $N-H$ است [۱۷ و ۱۸].

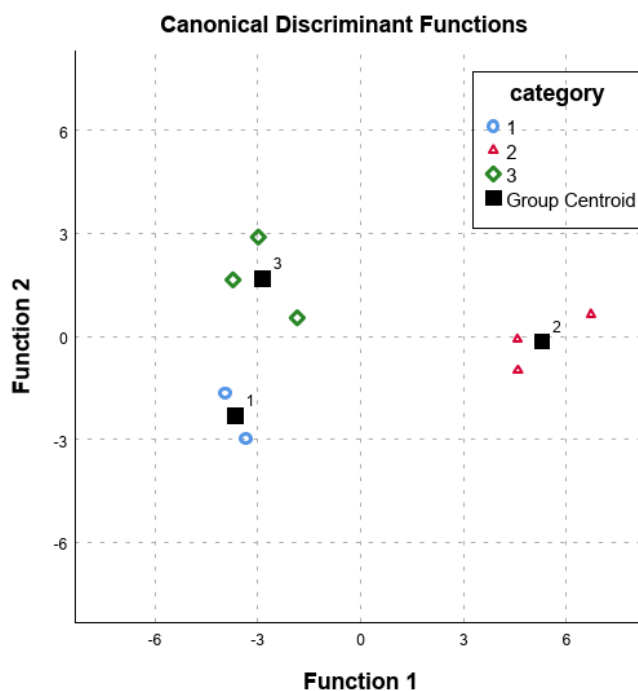
در نمودار خروجی FTIR-ATR، از ۸ نمونه تهیه شده (شکل ۱) نیز مشاهده کردیم نمودار محدوده ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} نشان دهنده جذب ۳ ماده اصلی قند عسل است. همچنین شاهد جذب زیاد در ناحیه ۳۰۰۰ تا 3500 cm^{-1} بودیم. بنابراین در ادامه به طبقه‌بندی داده‌ها با استفاده از داده‌های مربوط به دو بازه ۳۰۰۰ تا 4000 cm^{-1} و ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} پرداختیم.

طبقه‌بندی

برای مشاهده بهتر اختلاف طیف‌ها، نمودار مقایسه طیف FTIR-



شکل ۴. طبقه‌بندی با استفاده از داده‌های ناحیه ۳۰۰۰ تا ۴۰۰۰ cm^{-1} . گروه ۱ مربوط به نمونه‌های تقلبی (شربت گلوکز)، گروه ۲ مربوط به عسل چهل گیاه و گروه ۳ مربوط به عسل زیروفن است.



شکل ۵. طبقه‌بندی با استفاده از داده‌های ناحیه ۸۰۰ تا ۱۵۰۰ cm^{-1} . گروه ۱ مربوط به نمونه‌های تقلبی (شربت گلوکز)، گروه ۲ مربوط به عسل چهل گیاه و گروه ۳ مربوط به عسل زیروفن است.

۴. نتیجه‌گیری

در این مطالعه با بررسی کارهای انجام شده در تشخیص عسل اصل از تقلبی و بررسی روش‌های مختلف کیفیت عسل، مشاهده کردیم که روش FTIR-ATR روش کارآمدی است. داده‌های خروجی این طیف‌سنجی در محدوده ۴۰۰ تا 4000 cm^{-1} است و برای مطالعه عسل محدوده ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} نشان‌دهنده سه ماده اصلی قند است و در محدوده ۳۰۰۰ تا 4000 cm^{-1} نیز جذب نمونه‌های عسل و گلوکز بالا است. بنابراین ما به طبقه‌بندی داده‌ها در این ۲ بازه پرداختیم.

با طبقه‌بندی نتایج خروجی طیف‌سنجی FTIR-ATR با استفاده از تحلیل آماری چندمتغیره مشاهده کردیم در محدوده ۳۰۰۰ تا 4000 cm^{-1} ، داده‌های خروجی ما در سه گروه قرار گرفتند. گروه ۲ و ۳ که مربوط به عسل چهل گیاه و عسل زیروفن بودند داده‌های مشترکی با هم داشتند. این دو گروه ۱۰٪ از هم تفکیک نشده‌اند؛ اما گروه ۱ که مربوط به نمونه‌های شربت گلوکز است به خوبی از دو گروه دیگر تفکیک شده است و این نشان‌دهنده تمایز خروجی طیف‌سنجی برای دو نمونه اصل و تقلبی از هم است. داده‌های بازه ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} نیز در گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ به خوبی تفکیک شدند. البته نقاط اشتراک و نزدیکی بین دو گروه ۱ و ۳ مشاهده می‌شود.

این پژوهش نشان می‌دهد که طیف‌سنجی FTIR-ATR یک روش دقیق برای احراز هویت عسل اصل از تقلبی است. این روش نیاز به آماده‌سازی نمونه ندارد و با مقدار کمی از نمونه، سریع و ارزان هویت عسل را برای ما مشخص می‌کند.

طیف‌سنجی مربوط به دو بازه مختلف، است. مراکز تقل گروه‌ها هم با مربع مشکی رنگ مشخص شده‌اند طبق نتایج به دست آمده از ناحیه ۳۰۰۰ تا 4000 cm^{-1} (شکل ۴)، دو گروه ۲ و ۳ که مربوط به عسل‌های طبیعی هستند و گروه ۱ که مربوط به شربت گلوکز است کاملاً در دسته‌های جداگانه طبقه‌بندی شده‌اند و هیچ اشتراکی بین داده‌های مربوط به عدد موج ۳۰۰۰ تا 4000 cm^{-1} آنها وجود ندارد.

همچنین از نتایج به دست آمده از داده‌های بازه ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} (شکل ۵)، نیز مشاهده می‌کنیم که تفکیک داده‌ها به خوبی صورت گرفته است. همان طور که قبلاً اشاره شد، در طیف FTIR-ATR عسل، منطقه ۸۰۰ تا 1500 cm^{-1} مربوط به مناطق جذب ۳ ماده اصلی قند عسل (فروکتوز، گلوکز و ساکاروز) است [۱۶]. البته نقاط اشتراک و نزدیکی بین دو گروه ۱ و ۳ مشاهده می‌شود که برای بررسی این داده‌ها باید آزمایش‌هایی با تنوع بیشتر نمونه‌ها انجام شود.

نتایج حاصل از مدل‌های طبقه‌بندی نشان داد که داده‌های خروجی طیف‌سنجی FTIR-ATR توانایی جداسازی عسل اصل از تقلبی را دارند. تفاوت معنادار داده‌های خروجی طیف‌سنجی در محدوده تابشی مربوط به جذب سه ماده قند اصلی عسل در این پژوهش نشان‌دهنده کیفیت و اصل بودن نمونه عسل طبیعی چهل گیاه و عسل دارویی زیروفن می‌باشد. همچنین مشاهده کردیم که طیف‌سنجی FTIR-ATR یک روش سریع کم هزینه و بدون نیاز به آماده‌سازی نمونه است و مقدار بسیار کمی از نمونه، نتایج دقیقی از بررسی کیفیت عسل را ارائه می‌دهد.

مراجع

1. Z Farhadian and M Honarvar, *Iran Food Sciences and Industries* **15**, 74 (2018) 263 (in Persian).
2. M L Al, et al., *Food chemistry* **112**, 4 (2009) 863.
3. M Al Mamary, A Al Meeri, and M Al Habori, *Nutrition Research* **22**, 9 (2002) 1041.
4. A Puścion Jakubik, M H Borawska, and K Socha, *Foods* **9**, 8 (2020) 1028.
5. A Aljadi and M Kamaruddin, *Food Chemistry* **85**, 4 (2004) 513.
6. L da C Azeredo, et al., *Food Chemistry* **80**, 2 (2003) 249.
7. M Bahreini, et al., *Talanta* **204** (2019) 826.
8. A Safi, M Bahreini, and S Tavassoli, *Optics and Spectroscopy* **120**, 3 (2016) 367.
9. M Bahreini, *Journal of Lasers in Medical Sciences* **6**, 2 (2015) 51.
10. A Seifalinezhad, et al., *Journal of Lasers in Medical Sciences* **10**, 1 (2019) 64.

11. M Darbani and M Zahmatkesh, "Optical spectroscopy and applications", *Malek Ashtar University of Technology* **1** (2019) 120 (in Persian).
12. J Head, J Kinyanjui, and M Talbott, *Pittcon* **2015** (2015) 2220.
13. S Samarghandian, T Farkhondeh, and F Samini, *Pharmacognosy Research* **9**, 2 (2017) 121.
14. D S Moore, W I Notz, and W Notz, "Statistics: Concepts and controversies" Macmillan (2006).
15. R Safari and K Habibpour, *A comprehensive guide to using SPSS in surveyresearch (quantitative data analysis)* **6** (2018) 200 (in Persian).
16. K Ruoff and S Bogdanov, *Apiacta* **38**, 38 (2004) 317.
17. M Sahlan, et al., *Veterinary World* **12**, 8 (2019) 1304.
18. O Anjos, et al., *Food Chemistry* **169** (2015) 218.