

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی چند نوع عسل و مقایسه اثر ضد میکروبی آنها بر اسینتوباکتر بومانی و انتروکوکوس فکالیس

محبوبه دهقان^۱، جمشید مهرزاد^{۲*}

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران
۲- استادیار، گروه بیوشیمی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران
* نویسنده مسئول (mehrzadjam@iau-neyshabur.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۰/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۰۷

چکیده

واژه‌های کلیدی

اسینتوباکتر بومانی

انتروکوکوس فکالیس

عسل

فیزیکوشیمیایی

ضدمیکروبی

امروزه عوارض متعددی ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای انسان ایجاد شده و نیز باکتری‌ها نسبت به تعداد زیادی از آنها مقاوم شده‌اند. لذا توجه بسیاری از پژوهشگران به داروهای با منشأ طبیعی جلب شده است. هدف از این پژوهش بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی انواع عسل؛ شامل عسل‌های گیاه کبود محصول بهار ۱۳۹۵ و بهار ۱۳۹۶، گیاه پنج‌انگشت محصول بهار ۱۳۹۶ و گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان محصول پاییز ۱۳۹۶ جمع‌آوری شده از نیشابور بر باکتری‌های اسینتوباکتر بومانی (PTCC:1797) و انتروکوکوس فکالیس (PTCC:1394) بود. همچنین مقایسه اثر ضدمیکروبی این عسل‌ها در غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۷۰ درصد) بدون استفاده از آمپی‌سیلین و به همراه آمپی‌سیلین روی باکتری‌ها انجام شد. نتایج نشان داد تمامی عسل‌ها دارای کیفیت مناسبی بودند، هرچند عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان که نسبتاً تازه بود از نظر خواص فیزیکوشیمیایی به‌طور معنی‌داری از سایر عسل‌ها بهتر است. به‌طوری‌که دارای ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، اسیدیته، پرولین و وزن مخصوص بیشتر و دارای رطوبت کمتر و در کل کیفیت بهتری بود. طبق یافته‌ها تمامی عسل‌های مورد بررسی خاصیت باکتریوستاتیک داشتند و افزایش غلظت محلول عسل‌ها باعث افزایش خاصیت ضدمیکروبی آنها شد. همچنین مشخص شد با اضافه شدن آمپی‌سیلین به عسل‌ها مقدار تأثیر ضدمیکروبی آنها افزایش می‌یابد. از نظر خاصیت ضدمیکروبی هم عسل پاییزه گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان در مقایسه با سایر عسل‌ها بیشترین تأثیر را داشت. در نهایت نتیجه‌گیری می‌شود استفاده از عسل و به‌ویژه عسل تازه گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان به همراه آمپی‌سیلین می‌تواند در جلوگیری از رشد باکتری‌های اسینتوباکتر بومانی و انتروکوکوس فکالیس مؤثر باشد.

مقدمه

نیز دارند (Terrab, Díez, & Heredia, 2002). عسل یکی از قدیمی‌ترین داروهای سنتی است که برای درمان عفونت‌های میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ray & Ryan, 2004); قیصری و حمیدیان، (۱۳۸۷). این ماده غذایی یکی از راه‌آورد‌های مفید و ارزشمند طبیعت می‌باشد که خداوند در

هرچه افراد از عوارض جانبی خطرناک داروهای آنتی‌بیوتیکی بیشتر مطلع می‌شوند، میزان تقاضا برای جایگزین‌های طبیعی این داروها افزایش پیدا می‌کند. مواد طبیعی خطر این عوارض را کمتر می‌کنند و حتی گاهی اثرات جانبی مفیدی

بیماران بستری شده در بخش مراقبت‌های ویژه هستند (Eveillard, Kempf, Belmonte, Pailhoriès, & Joly-
(Guillou, 2013; Tang, Apisarntharak, & Hsu, 2014). می‌توان انتظار داشت که زنجیره غذایی نقش مهمی در انتشار پاتوژن‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌ها داشته باشد (Seiffert et al., 2013). یکی از دلایل اصلی که *اسینتوباکتر بومانی* توجه فراوانی را در عرصه بالینی و مواد غذایی به خود جلب کرده، توانایی شگفت‌انگیز آن برای به‌دست‌آوردن و انتشار ژن‌های مقاومت به انواع آنتی‌بیوتیک‌هاست (Novovic et al., 2015).
انتروکوکوس فکالیس^۵، باکتری هم‌زیست روده انسان و سایر پستانداران است و در ایجاد عفونت‌های بیمارستانی نقش دارد (Ray & Ryan, 2004). *انتروکوکوس فکالیس*، باکتری گرم مثبت، غیرمتحرک، اکسیداز منفی، بی‌هوازی اختیاری و کاتالاز منفی است و به بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم است (Amyes, 2007). یکی از باکتری‌های مهم در زمینه بهداشت مواد غذایی *انتروکوکوس* است و *انتروکوکوس فکالیس* گونه‌ای از جنس *انتروکوکوس* است که در مواد غذایی از شایع‌ترین گونه‌ها می‌باشد. از آنجاکه *انتروکوکوس*‌ها ساکن طبیعی روده انسان و حیوانات هستند شاخص مدفوعی در مواد غذایی محسوب شده و از این حیث اهمیت دارند (Abriouel et al., 2008). در بسیاری از کشورها، فاضلاب‌های شهری برای آبیاری مزارع کشاورزی استفاده می‌شوند که پاتوژن‌های روده‌ای موجود در آنها، در خاک و محصولات باقی‌مانده و مشکلات بهداشتی برای انسان ایجاد می‌کنند (Ibenyassine et al., 2007).
ذکر شده *انتروکوکوس* در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۰۰۸۲ (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۸۶) در جدول حد مجاز میکروبی مورداستفاده برای کنترل مواد غذایی، جزء شاخص‌های میکروبی در کنترل کیفیت سبزی ذکر شده‌اند.

باتوجه به اثرات ضد میکروبی و اثرات شگفت‌آور سلامتی بخش عسل، در تحقیق حاضر به بررسی ویژگی‌های فیزیکیوشیمیایی و تأثیر ۴ نوع عسل مختلف (عسل گیاه کبود محصول بهار ۱۳۹۵ و بهار ۱۳۹۶، عسل گیاه پنج‌انگشت محصول بهار ۱۳۹۶ و عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان محصول پاییز ۱۳۹۶) به تنهایی و همراه با آمپی‌سیلین روی *انتروکوکوس فکالیس* و *اسینتوباکتر بومانی* پرداخته شد. لازم به ذکر است آمپی‌سیلین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های منتخب بر ضد این باکتری‌هاست، ولی در برخی کشورها مانند ایالات

قرآن و در سوره نحل آن را تحت‌عنوان ماده شفا بخش برای انسان بیان فرموده است: «فیه شفاء للناس»، «خوردن عسل برای مردم شفاست (قرآن کریم، سوره نحل، آیه ۶۹)». چهارپنجم وزن عسل را کربوهیدرات (مواد قندی-نشاسته‌ای) تشکیل می‌دهد و سایر ترکیبات آن عبارتند از: پروتئین‌ها، املاح معدنی، ترکیبات معطر، آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، گرده گل و مقداری آب (پروانه، ۱۳۹۰). عسل یک ماده غذایی بسیار مفید با پتانسیل بالای ضد میکروبی و دیگر ویژگی‌های زیستی همچون ویژگی‌های ضد توموری، ضد التهابی، ضد اکسیدانی و ضد ویروسی می‌باشد. این ویژگی‌ها از نوعی عسل به نوعی دیگر تفاوت دارد که به گروهی از ترکیبات شیمیایی و خواص فیزیکی این ماده غذایی مربوط می‌شود که این خود به منشأ گیاهی، منطقه جغرافیایی و حشره‌شناسی عسل مرتبط می‌شود (Tong et al., 2014). سازمان ملی استاندارد ایران، (۱۳۹۲a). مشخص شده عسل با طیف وسیعی از میکروب‌های خطرناک از جمله هلیکوباکتر^۱ و سالمونلا^۲ به خوبی مبارزه می‌کند و همچنین عسل روی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، از جمله ابرمیکروبی به نام متیسیلین رزیستنتا *استافیلوکوکوس اورئوس*^۳ (MRSA) نیز مؤثر است و برخلاف بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها به‌نحو چشمگیری باعث پیشرفت بهبود زخم‌ها می‌شود (خدادادی و جامی، ۱۳۹۳). طبق گفته کوپر، عسل ممکن است به علت وجود آنزیم‌هایی که هنگام ساختن آن توسط زنبور عسل ترشح می‌شود، خاصیت میکروب‌زدایی داشته باشد، یا این خاصیت می‌تواند به علت درجه اسیدی بودن عسل یا وجود مواد شیمیایی گرفته‌شده از شهد طبیعی گیاهان باشد (Dunford, Cooper, Molan, & White, 2000).

اسینتوباکتر بومانی^۴ مهم‌ترین عضو در میان گونه‌های *اسینتوباکتر*، درباره عفونت‌های بیمارستانی در سراسر جهان است (Lin & Lan, 2014). *اسینتوباکتر بومانی* یک کوکوباسیل گرم منفی، اکسیداز منفی، غیرمتحرک و هوازی اجباری است که می‌توان آن را از مواد غذایی جدا کرد. گونه‌های متعلق به این جنس، پاتوژن‌های فرصت‌طلبی هستند که مسبب بروز عفونت‌های ناشی از قرارگیری در محیط‌های جمعی و عفونت‌های بیمارستانی، به‌ویژه در

¹ *Helicobacter*² *Salmonella*³ *Meticillinresistente Staphylococcus aureus*⁴ *Acinetobacter baumannii*⁵ *Enterococcus faecalis*

و فیزیکی‌شیمیایی ذیل مورد بررسی قرار گرفتند.

رطوبت

میزان رطوبت به روش قرائت میزان ضریب شکست در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد روی سطح تمیز و خشک منشور دستگاه رفاکتومتر آبه^۳ (مدل PECGroup, 2WAI، ساخت انگلستان) انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲b).

تعیین وزن مخصوص

ابتدا درصد مواد جامد محاسبه شد و براساس آن وزن مخصوص عسل محاسبه گردید. اختلاف درصد رطوبت از ۱۰۰، به‌عنوان درصد مواد جامد و مقدار عدد خوانده‌شده از دستگاه رفاکتومتر برحسب واحد بریکس، معادل مواد جامد قابل حل در نظر گرفته شد.

به‌منظور تعیین وزن مخصوص با استفاده از رابطه (۱) وزن مخصوص محلول ۲۰ درصد عسل محاسبه گردید (پروانه، ۱۳۹۰).

رابطه (۱)

$$+1(0.00386 \times \text{درصد مواد جامد}) = \text{وزن مخصوص}$$

هدایت الکتریکی

برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی محلول‌های ۲۰ درصد وزنی حجمی عسل از هدایت‌سنج (Jenway، ساخت انگلستان) استفاده گردید (Bogdanov & Martin, 2002).

خاکستر

برای اندازه‌گیری خاکستر از روش ذکرشده توسط Piazza، Accorti و Persano Oddo (۱۹۹۱) استفاده شد. رابطه میزان هدایت الکتریکی و میزان خاکستر در عسل در رابطه (۲) آورده شده است که در آن A میزان خاکستر برحسب گرم در ۱۰۰ گرم عسل و C میزان هدایت الکتریکی برحسب میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر می‌باشد.

رابطه (۲)

$$C = 0.14 + 1.74A$$

pH

میزان pH در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد و به‌کمک دستگاه pH متر (Jenway 3320، ساخت انگلستان) اندازه‌گیری شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲b).

متحدده همراه با سولباکتام^۱ علیه اسینتوباکتر بومانی استفاده می‌شود (Smolyakov *et al.*, 2003). لذا در تحقیق حاضر آمپی‌سیلین مورد استفاده قرار گرفت تا مشخص شود که عسل از نظر خاصیت ضد میکروبی به تنهایی در مقایسه با این آنتی‌بیوتیک که اکنون به تنهایی بر ضدباکتری‌های مورد نظر اثر زیادی ندارد در چه جایگاهی قرار دارد و همچنین ترکیب عسل با این آنتی‌بیوتیک چه تأثیری را در پیشگیری از رشد و احتمالاً درمان عفونت‌های ایجادشده با این باکتری‌ها نشان می‌دهد. چنانچه اثبات‌شود استفاده عسل همراه با آمپی‌سیلین می‌تواند مانع رشد این باکتری شود می‌توان توصیه‌نمود که این ماده غذایی مفید جایگزین سولباکتام شود. همچنین ذکرشده عفونت‌های ناشی از *انتروکوکوس فکالیس* حساس را می‌توان با استفاده از آمپی‌سیلین و وانکومايسين^۲ درمان کرد (Fisher & Phillips, 2009). لذا افزایش تأثیر آمپی‌سیلین با استفاده از عسل بر *انتروکوکوس فکالیس* نیز می‌تواند کمک زیادی برای جلوگیری و درمان عفونت‌ها نماید.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق که طی مدت زمستان سال ۱۳۹۶ و بهار ۱۳۹۷ انجام شد، ۴ نوع عسل مختلف مورد استفاده قرار گرفت. عسل‌های مورد استفاده عبارتند از عسل گیاه کبود محصول بهار ۱۳۹۵ و بهار ۱۳۹۶، عسل گیاه پنج‌انگشت محصول بهار ۱۳۹۶ و عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان محصول پاییز ۱۳۹۶. تمام عسل‌ها به‌صورت مستقیم از زنبورداران معتبر و مطمئن شهرستان نیشابور در استان خراسان رضوی خریداری گردید. عسل‌ها در محل تاریک و خنک نگهداری شدند.

سویه‌های استاندارد باکتری‌های *اسینتوباکتر بومانی* و *انتروکوکوس فکالیس* به‌صورت خشک‌شده انجمادی از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند. محیط‌های کشت مولر هینتون آگار، نوترینت برات، نوترینت آگار، سیمون سیترا آگار، بلاد آگار و تریپتون شوگر آگار و همچنین مواد شیمیایی و دیسک آنتی‌بیوتیک از شرکت مرک (آلمان) تهیه گردید.

آزمون‌های فیزیکی‌شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی

در ابتدا به‌منظور ارزیابی کیفیت عسل، خواص آنتی‌اکسیدانی

^۱ Sulbactam

^۲ Vancomycin

^۳ Abbe

اسیدیته

با رقیق کردن عسل مطابق استاندارد به روش تیتراسیون انجام شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

قندهای احیاکننده

درصد قندهای احیاکننده به روش لین آینون محاسبه گردید. در این روش از محلول‌های فهلینگ A و B جهت تعیین مقدار میلی‌گرم قند اینورت لازم برای احیای مس استفاده شد. قندهای احیاکننده با احیا کردن محلول‌های فهلینگ A و B رسوب آجری‌رنگ اکسید مس ایجاد کردند و از متیلن‌بلو برای شناساگر نقطه پایانی استفاده گردید. با اندازه‌گیری مقدار رسوب تشکیل شده مقدار قند موجود در نمونه تعیین شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

گلوکز

با استفاده از روش یدومتری و تیتراسیون محلول نمونه عسل آزمون قندهای احیاکننده، درصد گلوکز به دست آمد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

فروکتوز

از تفاوت مقدار قندهای احیاکننده قبل از هیدرولیز منهای مقدار گلوکز، مقدار فروکتوز به دست می‌آید (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

نسبت فروکتوز به گلوکز

از تقسیم درصد فروکتوز بر درصد گلوکز به دست آمد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

ساکارز

برای محاسبه درصد ساکارز، اختلاف قندهای احیاکننده قبل و بعد از هیدرولیز در ضریب ۰/۹۵ ضرب شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

تعیین مقدار هیدروکسی‌متیل فورفورال^۱ (HMF)

از روش ارائه شده در استاندارد ملی عسل استفاده شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب). پس از شفاف کردن نمونه‌ها توسط معرف‌های کاریز ۱ و ۲ و افزودن سدیم بی‌سولفیت و آب مقطر به ترتیب به محلول شاهد و نمونه،

جذب نوری آنها در مقابل محلول شاهد در طول موج‌های ۲۸۴ و ۳۳۶ نانومتر توسط اسپکتروفوتومتر (Unico، ساخت آلمان) خوانده شد و سپس میزان هیدروکسی‌متیل فورفورال با کم کردن میزان جذب در طول موج ۳۳۶ نانومتر از میزان جذب در طول موج ۲۸۴ نانومتر به دست آمد

تعیین فعالیت دیاستازی

برای این منظور محلول استاندارد نشاسته تهیه و به نمونه اضافه گردید و در حمام آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس کاهش رنگ در فواصل زمانی یکسان با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین زمان برحسب دقیقه (t_x) برای رسیدن به جذب ۰/۲۳۵، نمودار جذب برحسب زمان رسم شد و با استفاده از معادله خط، عدد دیاستاز از تقسیم ۳۰۰ بر t_x محاسبه شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل به صورت درصد به دام انداختن رادیکال آزاد ۲ و ۲-دی‌فنیل ۱-پیکریل‌هیدرازیل^۲ (DPPH) به روش اسپکتروفوتومتری محاسبه شد و جذب نمونه در طول موج ۵۱۷ نانومتر در برابر شاهد اندازه‌گیری شد (Ferreira, Aires, Barreira, & Estevinho, 2009).

ترکیبات فنولی

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی میزان جذب محلول نمونه در طول موج ۷۲۵ نانومتر به وسیله اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. از محلول اسیدگالیک به عنوان محلول استاندارد استفاده شد و میزان کل ترکیبات فنولی عسل تعیین گردید (Zainoldin & Baba, 2009).

پرولین

در روش رنگ‌سنجی با استفاده از محلول پرولین به عنوان استاندارد جذب نمونه‌ها در مقابل آب مقطر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. جهت ایجاد رنگ از محلول فرمیک‌اسید^۳ و محلول نین‌هیدرین^۳ استفاده شد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ا).

^۲ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

^۳ Ninhydrin

^۱ Hydroxymethyl Furfural

بررسی فعالیت ضد میکروبی عسل

برای انجام آزمون‌های میکروبی ابتدا غلظت‌های ۱۰، ۲۰، ۵۰ و ۷۰ درصد از نمونه‌های عسل با حل کردن در محیط کشت نوترینت برات تهیه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت ۰/۵ مک‌فارلند (حدود $10^8 \times 1/5$ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) به لوله‌های حاوی غلظت‌های مختلف عسل اضافه شد و به مدت یک شب در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، گرم‌خانه‌گذاری شد. از لوله‌هایی که کدورت در آنها دیده نشد، ۱ میلی‌لیتر برداشته و به ۹ میلی‌لیتر محیط کشت بدون عسل اضافه گردید و به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. سپس از محتویات این لوله‌ها روی محیط کشت آگار کشت تهیه شد و به مدت ۲۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. در صورت رشد، عسل خاصیت باکتریواستاتیک^۱ داشته و در غیر این صورت عسل خاصیت باکتریوسیدال^۲ دارد (Almasaudi et al., 2017). لازم به ذکر است جهت اطمینان و تأیید روش کدورت‌سنجی، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عسل بر باکتری‌ها به روش جذب‌سنجی به وسیله ایزاریدر^۳ (مدل BP 800، ستخن فنلاند) نیز انجام شد، به این صورت که به مدت ۲۴ ساعت مخلوط غلظت‌های مختلف عسل و باکتری‌ها در پلیت ۹۶ تایی با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد و سپس جذب توسط ایزاریدر در طول موج ۶۳۰ نانومتر خوانده شد.

بررسی تأثیر ترکیب عسل و آنتی‌بیوتیک بر باکتری‌ها

به منظور تشخیص اینکه باکتری‌های مورد نظر نسبت به چه آنتی‌بیوتیک‌هایی حساس و نسبت به کدام آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند تست آنتی‌بیوگرام برای آموکسی‌سیلین^۴، جنتامایسین^۵، آمپی‌سیلین^۶، اریترومایسین^۷ و تتراسایکلین^۸ به روش دیسک دیفیوژن^۹ انجام شد. آشکار شد که ایتروکوکوس فکالیس به آموکسی‌سیلین مقاوم بود، به جنتامایسین و آمپی‌سیلین تا حدودی مقاوم و نسبت به اریترومایسین و تتراسایکلین حساسیت زیاد نشان داد.

اسینتویاکتر بومانی به آموکسی‌سیلین مقاوم بود، نسبت به جنتامایسین، تتراسایکلین و اریترومایسین حساس بود (بیشترین حساسیت را نسبت به جنتامایسین نشان داد) و نسبت به آمپی‌سیلین تا حدودی حساس بود. لذا آمپی‌سیلین که یکی از آنتی‌بیوتیک‌های منتخب بر ضد این باکتری‌هاست و هر دو باکتری در برابر آن مقاوم بودند برای انجام آزمایش‌های بعدی انتخاب شد.

غلظت‌های مختلف عسل به همراه رقت بهینه‌ای از آمپی‌سیلین، یعنی ۶۴ میلی‌گرم بر لیتر برای اسینتویاکتر بومانی (Karumathil, Gaffney, Surendran Nair, 2018) و ۴ میلی‌گرم بر لیتر برای ایتروکوکوس فکالیس (Tong et al., 2014)، در چاهک‌های پلیت ۹۶ تایی ریخته شد و سپس به آن مقدار معینی از باکتری‌ها اضافه شد. نتایج توسط دستگاه الیزاریدر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

کل آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۰) و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن^{۱۰} در سطح ۵ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

باتوجه به بررسی خواص متعدد فیزیکیوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی در ذیل به ارائه نتایج و بحث هر مورد به‌طور جداگانه پرداخته می‌شود.

نتایج و بحث آزمون‌های فیزیکیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی
روش تولید، شرایط فراوری، شرایط آب‌وهوایی در دوره تولید عسل، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری، محل نگهداری و همچنین منبع شهد، تأثیر مهمی بر کیفیت، ترکیب و ویژگی‌های بیوشیمیایی عسل دارد و به همین دلایل عسل‌ها می‌توانند خصوصیات فیزیکیوشیمیایی و در نتیجه کیفیت متفاوتی داشته باشند (Iglesias et al., 2012; Moreti, 2006) در تحقیق حاضر نیز باتوجه به نتایج آزمون‌های فیزیکیوشیمیایی مورد بررسی که در جدول (۱) آورده شده است برخی تفاوت‌ها در کیفیت عسل‌ها مشاهده شد که در بعضی موارد معنی‌دار بود.

¹ Bacteriostatic

² Bacteriocidal

³ Elisa Reader

⁴ Amoxicillin

⁵ Gentamicin

⁶ Ampicillin

⁷ Erythromycin

⁸ Tetracycline

⁹ Disk Diffusion

¹⁰ Duncan

جدول ۱- نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل مورد بررسی

ویژگی	گل کبود ۱۳۹۵	گل کبود ۱۳۹۶	گیاه پنج‌انگشت	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	استاندارد
رطوبت (درصد)	۱۴/۷۵ ^b ±۰/۰۰	۱۵/۳۵ ^a ±۰/۰۰	۱۵/۱۴ ^a ±۰/۰۰	۱۴/۵۹ ^b ±۰/۰۴	حداکثر ۲۰
وزن مخصوص (گرم بر میلی‌لیتر)	۱/۳۳ ^c ±۰/۰۰	۱/۳۳ ^b ±۰/۰۰	۱/۳۲ ^{bc} ±۰/۰۰	۱/۳۳ ^a ±۰/۰۰	-
هدایت الکتریکی (میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	۰/۱۵ ^d ±۰/۰۱	۰/۱۶ ^c ±۰/۰۱	۰/۱۷ ^b ±۰/۰۰	۰/۴۶ ^a ±۰/۳۱	حداکثر ۰/۸۰
خاکستر (درصد)	۰/۰۰ ^c ±۰/۰۰	۰/۰۱ ^c ±۰/۰۰	۰/۰۶ ^b ±۰/۰۱	۰/۱۸ ^a ±۰/۰۰	حداکثر ۰/۶۰
pH	۴/۳۴ ^d ±۰/۰۱	۴/۴۲ ^b ±۰/۰۲	۵/۲۷ ^a ±۰/۰۱	۴/۳۷ ^c ±۰/۱۰	حداقل ۳/۵۰
اسیدیته آزاد (میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم)	۱۵/۳۴ ^c ±۰/۵۱	۱۷/۲۷ ^b ±۰/۵۰	۱۷/۶۷ ^b ±۰/۰۵	۱۹/۰۰ ^a ±۰/۲۱	حداکثر ۴۰
HMF (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۱۳/۸۰ ^b ±۰/۱۵	۱۱/۱۸۹ ^d ±۰/۱۱	۱۲/۵۷ ^c ±۰/۳۱	۱۷/۹۸ ^a ±۰/۲۳	حداکثر ۴۰
قندهای احیاکننده (درصد)	۷۷/۸۵ ^b ±۰/۱۱	۷۴/۸۵ ^d ±۰/۹۰	۷۵/۱۵ ^c ±۰/۴۷	۸۳/۲۵ ^a ±۰/۲۳	حداقل ۶۵
ساکارز (درصد)	۱/۴۵ ^c ±۰/۲۱	۲/۱۵ ^b ±۰/۳۳	۴/۸۸ ^a ±۰/۳۷	۱/۳۸ ^c ±۰/۲۵	حداکثر ۵
فروکتوز (درصد)	۴۶/۳۸ ^c ±۰/۴۷	۴۶/۸۳ ^b ±۰/۳۰	۳۸/۲۸ ^d ±۰/۳۱	۴۸/۸۳ ^a ±۰/۹۹	-
گلوکز (درصد)	۳۱/۵۵ ^c ±۰/۷۲	۲۷/۹۵ ^d ±۰/۹۰	۳۶/۹۵ ^a ±۰/۰۴	۳۵/۱۵ ^b ±۰/۵۶	-
نسبت فروکتوز به گلوکز	۱/۴۷ ^b ±۰/۱۰	۱/۶۴ ^a ±۰/۰۵	۱/۰۲ ^d ±۰/۰۴	۱/۳۸ ^c ±۰/۰۲	حداقل ۰/۹۰
دیاستاز (DN)	۵/۰۰ ^d ±۰/۳۱	۱۹/۵۰ ^a ±۰/۲۲	۸/۵۶ ^c ±۰/۰۶	۱۲/۲۰ ^b ±۰/۳۰	حداقل ۳
آنتی‌اکسیدان (درصد)	۱۴/۲۳ ^b ±۰/۰۷	۱۱/۷۶ ^c ±۰/۰۱	۹/۷۶ ^d ±۰/۰۳	۱۶/۷۸ ^a ±۰/۰۵	-
ترکیبات فنلی (میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم)	۲۱/۳۵ ^b ±۰/۰۱	۲۰/۲۵ ^c ±۰/۳۱	۱۷/۷۱ ^d ±۰/۱۱	۲۳/۱۸ ^a ±۰/۱۸	-
پرولین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	۲۶۷/۸۱ ^c ±۰/۱	۲۶۱/۲۳ ^d ±۰/۱۱	۳۴۵/۱۳ ^b ±۰/۰۳	۵۲۸/۷۵ ^a ±۰/۰۴	حداقل ۱۸۰

DN: عدد دیاستازی (Diastasis Number)

نتایج به صورت مقادیر میانگین انحراف± استاندارد بیان شده‌اند.

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار حداقل در سطح ($P < 0.05$) است، به ترتیب a بیشترین و d کمترین مقدار را در هر ویژگی نشان می‌دهد.

رطوبت

رطوبت بالای عسل نشان‌دهنده برداشت زودهنگام یا به‌عبارتی نارس بودن عسل و یا برداشت تحت شرایط رطوبت بالاست (Ajlouni & Sujirapinyokul, 2010; Bertoncelj, 2011; Golob, Kropf, & Korošec, 2011). رطوبت زیاد در عسل می‌تواند باعث تخمیر آن در حین نگهداری و تولید دی‌اکسیدکربن و اتانول شود. الکل تولیدی به استیک‌اسید و آب اکسیدشده و باعث ایجاد طعم و مزه ترش و کاهش کیفیت در عسل می‌شود (Viuda-Martos et al., 2010). باتوجه به نتایج ارائه‌شده در جدول (۱) و در نظر گرفتن استاندارد ملی ایران (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲b)، که میزان رطوبت حداکثر ۲۰ درصد است، رطوبت تمامی نمونه‌ها در محدوده استاندارد قرار داشت. بنابراین عسل‌های مورد بررسی رطوبت اضافی که باعث تخمیر و فساد آنها شود و در نتیجه کیفیت و میزان خاصیت ضد میکروبی عسل‌ها را پایین بیاورد را نداشتند. بیشترین رطوبت مربوط به عسل

بهاره گل کبود سال ۱۳۹۶ بود ($P \leq 0.05$). باتوجه به اینکه در نیشابور در فصل بهار، میزان بارندگی بیشتر از فصول تابستان و پاییز است، لذا عسل برداشت‌شده در فصل بهار میزان رطوبت بیشتری از عسل پاییزه داشت. کمترین رطوبت را گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان داشت.

وزن مخصوص

نتایج تحقیق حاضر که در جدول (۱) ارائه‌شده مؤید رابطه بین وزن مخصوص و رطوبت است، یعنی با کاهش رطوبت، وزن مخصوص عسل افزایش می‌یابد. باتوجه به مطلوب بودن رطوبت و لذا وضعیت مطلوب وزن مخصوص عسل‌ها می‌توان گفت عسل‌های مورد مطالعه این تحقیق دارای کیفیت خوب و طبیعی بودند. وزن مخصوص مطلوب عسل می‌تواند مبین وضعیت مناسب مقادیر مواد مختلف آن از جمله آمینواسید پرولین، آنزیم دیاستاز، ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌ها که دارای خاصیت ضد میکروبی‌اند، باشد. از میان عسل‌های

الکتریکی و محتوای خاکستر توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Juszczak *et al.*, 2009; Saxena, Gautam, & Sharma, 2010; Silva, Videira, Monteiro, Valentão, & Andrade, 2009).

pH

خصلت ضد میکروبی عسل را می‌توان در کنار عواملی مانند ترکیبات ضد میکروبی به pH اسیدی عسل نیز نسبت داد (بیک‌نژاد و همکاران، ۱۳۹۲). pH پایین عسل می‌تواند مربوط به استفاده از اسید جهت هیدرولیز ساکارز باشد. البته مقدار پایین‌تر از حد استاندارد در عسل‌های طبیعی نیز می‌تواند به دلیل برداشت زودتر از موعد عسل از کندو باشد که در این موارد به علت بالاتر بودن میزان رطوبت ممکن است عسل دچار تخمیر اسیدی گشته و بر میزان اسیدیته آن افزوده و در نهایت با نزول pH همراه است (Ajlouni & Sujirapinyokul, 2010). باتوجه به نتایج نشان داده شده در جدول (۱) مقدار pH در تمام نمونه‌ها در محدوده طبیعی و بالاتر از حداقل استاندارد ۳/۵ قرار داشت (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۳). رمزی و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه‌ای که در مورد مقایسه خواص فیزیکوشیمیایی عسل‌های طبیعی با عسل‌های شکر و تقلبی انجام دادند میزان pH را با میانگین ۳/۵۷ به دست آوردند و آن را دلیلی بر طبیعی بودن عسل بیان داشتند.

اسیدیته آزاد

اسیدیته عسل به علت حضور اسیدهای آلی، عمدتاً اسیدهای گلوکونیک، پیرویک، مالئیک و سیتریک در تعادل با لاکتون‌های متناظر یا استرهای داخلی خود و نیز یون‌های غیرآلی مانند فسفات، سولفات و کلراید می‌باشد (کامکار و خدابخشیان، ۱۳۹۶). تخمیر عسل باعث افزایش اسیدیته و طبعاً کاهش pH می‌شود. در استاندارد جهانی pH عسل در محدوده ۳/۲ تا ۴/۵ (میانگین ۳/۳۹) و اسیدیته در طرح اروپایی حداکثر تا ۴۰ میلی‌اکی‌والان و در طرح کدکس^۱ (Davies, 1970) حداکثر تا ۵۰ میلی‌اکی‌والان می‌باشد. براین اساس و باتوجه به نتایج پژوهش حاضر (جدول ۱)، pH و اسیدیته نمونه‌های موردآزمون مطابق با استاندارد ملی کشور (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب) و کدکس بود. این مقادیر قابل قبول اسیدیته گویای فقدان تخمیر نامطلوب در نمونه‌ها بوده است (Silva *et al.*, 2009).

مورد بررسی بیشترین وزن مخصوص را عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان داشت، لذا می‌توان گفت این عامل توانسته در خاصیت ضد میکروبی آن تأثیر داشته باشد که نتایج تحقیق حاضر بیانگر این موضوع بود ($P \leq 0/05$). به‌طور کلی هرچه کیفیت عسل بهتر باشد خاصیت ضد میکروبی آن بیشتر خواهد بود (بیک‌نژاد، جلیلیان و چایچی، ۱۳۹۲).

هدایت الکتریکی

هدایت الکتریکی عسل به مقدار زیادی مربوط به محتوای نمک‌های معدنی (خاکستر کل)، اسیدهای آلی و پروتئین‌ها می‌باشد که براساس نوع گل، بسیار تغییر پذیر بوده و در تمایز عسل‌های با منشأ گل‌های متفاوت مهم می‌باشد (Juszczak, Socha, Roznowski, Fortuna, & Nalepka, 2009; Terrab *et al.*, 2002). باتوجه به جدول (۱) تمامی نتایج در محدوده استاندارد بود (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب). بیشترین مقدار هدایت الکتریکی مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان به دست آمد که دارای بیشترین اسیدیته آزاد نیز بود ($P \leq 0/05$).

محتوای خاکستر

مقدار خاکستر عسل عمدتاً به نوع گیاهی که زنبور از آن استفاده می‌کند، بستگی دارد؛ ولی شیوه پرورش زنبور عسل و روش عسل‌گیری توسط زنبوردار نیز در آن مؤثر است. رمزی، کاشانی‌نژاد، صادقی‌ماهونک و رضوی، (۱۳۹۳) و قیصری و حمیدیان، (۱۳۸۷) ۶ مورد خاکستر عسل را بالاتر از حد استاندارد گزارش کرده‌اند و یکی از علل آن را عدم تصفیه صحیح عسل و ناخالصی‌های احتمالی موم باقی‌مانده حین عسل‌گیری بیان کردند و خاطرنشان کردند که البته تنها به این علت نمی‌توان یقین به تقلبی بودن عسل کرد.

میزان خاکستر به‌طور طبیعی در عسل پایین و مطابق استاندارد ایران حداکثر ۰/۶ گرم درصد می‌باشد. بنابراین باتوجه به نتایج ارائه شده در جدول (۱) نتیجه می‌شود تمامی عسل‌های موردآزمون بدون ناخالصی بوده‌اند و به‌خوبی تصفیه شده‌اند و در محدوده استاندارد قرار داشته‌اند. افزایش محتوای خاکستر در نمونه‌های عسل همراه با افزایش هدایت الکتریکی می‌باشد (رمزی و همکاران، ۱۳۹۳). همان‌طور که در نتایج مشاهده می‌شود بیشترین میزان خاکستر و هدایت الکتریکی مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بوده است ($P \leq 0/05$) که با نتایج بررسی‌های pH و هدایت الکتریکی مطابقت دارد. وجود چنین وابستگی بسیار نزدیک بین هدایت

¹ Codex

HMF

این ترکیب طی فرایند حرارتی در اثر خروج مولکول آب از اسید هگزوزها مثل فروکتوز و گلوکز در شرایط کاتالیزه شده حاصل می‌گردد (Terrab *et al.*, 2002). HMF در عسل تازه، یا وجود ندارد و یا در مقادیر بسیار ناچیز وجود دارد، در حالی که در عسل‌های حرارت دیده، نگهداری شده در شرایط نامساعد دمایی یا مخلوط شده با شربت اینورت (تقلبی شدن) مقادیر زیادی از آن وجود دارد (رمزی و همکاران، ۱۳۹۳). باتوجه به اطلاعات گرفته شده از زنبوردار، عسل گیاهان پنبه و آفتاب گردان در معرض نور خورشید بوده اما کلاً هیچ گونه حرارت دهی و اضافه کردن قند مصنوعی در هیچ کدام یک از عسل‌ها انجام نشده است. طبق نتایج موجود در جدول (۱) بیشترین میزان هیدروکسی متیل فورفورال مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب گردان بود که در شرایط کمی نامناسب نگهداری شده بوده است ($P \leq 0.05$). باین حال تمامی مقادیر به دست آمده در سطح استاندارد (کمتر از ۴۰ میلی گرم در کیلوگرم) می‌باشند و از کیفیت آنها اصلاً کاسته نشده است (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب؛ لک زاده، قیصری و ماهیانه، ۱۳۹۱) در مطالعه‌ای که روی عسل‌های مختلف استان اصفهان انجام دادند بیشترین میزان HMF را ۳۱/۲۹ میلی گرم بر کیلوگرم گزارش کرده‌اند، باین حال ذکر کرده‌اند که در مقایسه با میزان استاندارد، مناسب می‌باشند و از آنها می‌توان استفاده نمود. لذا می‌توان گفت شرایط نگهداری عسل‌های مورد بررسی در طرح حاضر که بیشترین مقدار HMF در بین آنها حدود ۱۸ میلی گرم بر کیلوگرم بود بسیار بهتر از شرایط آنها بوده است.

قندها

قندهای اصلی عسل را قندهای ساده مانند دکستروز (گلوکز) و لووز (فروکتوز) تشکیل می‌دهند. ویژگی‌های فیزیکی اصلی و رفتار عسل به دلیل قند آن است (White & Doner, 1980). اندازه گیری میزان قندهای احیا کننده در تشخیص عسل طبیعی از عسلک بسیار مفید است (قیصری و حمیدیان، ۱۳۸۷). نتایج آورده شده در جدول (۱) گویای این هستند که مقدار قندهای احیا کننده در تمام نمونه‌های عسل بالاتر از مقدار ذکر شده در استاندارد ملی عسل (حداقل ۶۵) بود (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب). که این نشان دهنده استاندارد بودن این مقادیر است. اسمولاریته^۱ بالای عسل مربوط به مقادیر بالای قند آن می‌باشد. اسمولاریته^۱ بالا

محیط نامناسبی را برای باکتری‌ها ایجاد کرده و در نتیجه از رشد آنها جلوگیری به عمل می‌آورد. در نتیجه از آنجایی که بیشترین میزان قندها را عسل گیاهان پنبه و آفتاب گردان دارا بود، این ویژگی می‌تواند به خاصیت ضد میکروبی آن کمک زیادی کند. به طور کلی محتوای ساکارز بالاتر را می‌توان به تغذیه دهی بیش از حد زنبورهای عسل با شربت ساکارز، تقلبی شدن و یا برداشت زودتر از موعد عسل که در آن ساکارز هنوز به طور کامل به گلوکز و فروکتوز تبدیل نشده است، نسبت داد (رمزی و همکاران، ۱۳۹۳). باتوجه به نتایج جدول (۱)، از آنجایی که تمامی مقادیر به دست آمده برای ساکارز در نمونه‌های عسل مورد بررسی در محدوده استاندارد بود، می‌توان نتیجه گرفت زنبورهایی که این عسل‌ها را تولید کرده‌اند با شربت ساکارز تغذیه نشده‌اند و همچنین این عسل‌ها زودتر از موعد برداشت نشده است. طبق نتایج به دست آمده نسبت فروکتوز به گلوکز در تمامی نمونه‌ها بالاتر از حداقل میزان ذکر شده در استاندارد ملی عسل (حداقل ۰/۹) می‌باشد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب).

دیاستاز

دیاستاز یک آنزیم طبیعی در عسل می‌باشد (Gomes, Dias, 2010; Moreira, Rodrigues, & Estevinho, 2010). فعالیت دیاستازی نشان دهنده طبیعی بودن و تازگی عسل است (Cantarelli, Pellerano, Marchevsky, & Camiña, 2008). این آنزیم حساس به حرارت دهی و شرایط نگهداری می‌باشد (Silva *et al.*, 2009). باتوجه به نتایج موجود در جدول (۱) بیشترین میزان فعالیت دیاستازی مربوط به عسل گل کبود ۱۳۹۶ و بعد از آن مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب گردان بود که در شرایط نگهداری اش کمی نامناسب بوده است و کمترین میزان فعالیت دیاستازی مربوط به قدیمی ترین عسل بوده است ($P \leq 0.05$). باین حال تمامی عسل‌ها بیشتر از مقدار حداقلی (۳ DN) دارای دیاستاز می‌باشد. رمزی و همکاران (۱۳۹۳) در پژوهش خود نشان دادند که عسل تقلبی فاقد فعالیت دیاستازی می‌باشد.

فعالیت آنتی اکسیدانی

فعالیت آنتی اکسیدانی عسل‌های طبیعی در اثر حضور بسیاری از مواد مختلف مانند آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، آمینواسیدها و آسکوربیک اسید است (Hussein, Yusoff, Makpol, & Yusof, 2011). لذا تفاوت در فعالیت آنتی اکسیدانی بین انواع

¹ Osmolarity

مورد مطالعه است، ضمن اینکه عسل نعنای دارای بیشترین میزان ترکیبات فنولی، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی نسبت به سایر نمونه‌ها بوده است (Moniruzzaman, Sulaiman, Azlan, & Gan, 2013).

پرولین

پرولین آمینواسید اصلی عسل می‌باشد که به‌عنوان شاخصی از کیفیت عسل است و به علت داشتن خاصیت اسیدی در اثر ضد میکروبی عسل تأثیر دارد. چنانچه میزان آن از حد مشخصی کمتر گردد نشانه کیفیت نامناسب عسل می‌باشد (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ا). باتوجه به نتایج آورده‌شده در جدول (۱) بیشترین میزان پرولین مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان به‌دست آمد ($P \leq 0.05$) که این نتیجه می‌تواند یکی از عوامل توجیه‌کننده خاصیت ضد میکروبی بیشتر این نوع عسل از سایر عسل‌ها باشد. البته میزان پرولین تمامی نمونه‌های عسل مورد بررسی بیشتر از میزان حداقل ذکر شده در استاندارد ملی عسل (سازمان ملی استاندارد ایران، ۱۳۹۲ب). بود (حداقل ۱۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و لذا کیفیت مناسبی داشتند.

نتایج و بحث آزمون‌های ضد میکروبی

تأثیر عسل بر رشد باکتری‌ها

نتایج حاصل از رشد باکتری‌های ۲۴ ساعته روی محیط کشت آگار در روش کدورت‌سنجی که در این قسمت به‌صورت جدول نشان داده‌نشده آشکار نمود عسل‌های مورد بررسی خاصیت باکتریوستاتیک^۱ دارند و رشد را مهار می‌کنند. در غلظت‌های کمتر عسل با گذشت زمان رشد باکتری‌ها مشاهده شد. بیشترین اثر مهارکنندگی بر هر دو باکتری مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بود.

مقدار جذب توسط چاهک حاوی فقط محیط کشت و اسینتویاکتر بومانی (کنترل) ۰/۱۰۸ و مقدار کنترل جذب ائتروکوکوس فکالیس ۰/۰۶۱ به‌دست آمد. مقدار جذب (رشد) باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف انواع عسل‌های مورد بررسی حاصل از جذب‌سنجی توسط الیزاریدر در جدول (۲) آورده شده است که نتایج کدورت‌سنجی را تأیید می‌کنند. هرچه غلظت عسل موجود در محیط کشت بیشتر بود خاصیت ضد میکروبی آن نیز بیشتر بود.

عسل به علت تفاوت مقدار آنتی‌اکسیدان‌های عسل به‌خصوص میزان ترکیبات فنولی می‌باشد و به شدت بستگی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل متصل به حلقه بنزن این ترکیبات داشته که دهنده الکترون هستند (Socha et al., 2011). در مطالعه حاضر و باتوجه به نتایج موجود در جدول (۱)، بیشترین میزان فعالیت مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بود ($P \leq 0.05$).

مقدار کل ترکیبات فنولی

ترکیبات فنولی، گروه مهمی از ترکیبات مؤثر بر خواص ظاهری و عملکردی عسل می‌باشند که دارای خواص تغذیه‌ای و درمانی نیز هستند (Alvarez-Suarez et al., 2010). این ترکیبات به شدت تحت تأثیر نوع گل، منشأ جغرافیایی و ویژگی‌های آب‌وهوایی محل تولید می‌باشند (Escuredo, Silva, Valentão, Seijo, & Andrade, 2012).

تعیین مقدار ترکیبات فنولی موجود در عسل معیار مناسبی برای ارزیابی کیفیت و پتانسیل درمانی آن می‌باشد (Ouchemoukh, Louaileche, & Schweitzer, 2007). ترکیبات فنولی به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی از جمله ترکیبات مهم محسوب می‌شوند که نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد و جلوگیری از تبدیل هیدروپراکسیدها به رادیکال‌های آزاد دارند (Jimoh, Adedapo, Aliero, & Afolayan, 2008). باتوجه به نتایج جدول (۱) بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بود که همچنین بیشترین مقدار آنتی‌اکسیدان را نیز دارا بود ($P \leq 0.05$). Socha و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی ۸ نمونه عسل مختلف در لهستان معلوم کردند که با افزایش میزان ترکیبات فنولی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل بالا می‌رود. مشابه این یافته، Silici و Kutluca (۲۰۰۵) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی ۵ نمونه عسل از ترکیه به این نتیجه رسیدند که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل مورد مطالعه و میزان ترکیبات فنولی آنها ارتباط قوی وجود دارد. در مطالعه‌ای نیز روی ۵ نمونه عسل با منشأ گیاهی مختلف در کشور تونس میزان ترکیبات فنولی در محدوده ۱۱۹/۴۹ - ۳۲/۷ میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم به‌دست‌آمده که از محدوده مقادیر به‌دست‌آمده در طرح کنونی بیشتر است (۱۷ تا ۲۳ میلی‌گرم اسیدگالیک بر ۱۰۰ گرم) و مبین تفاوت گیاهان و شرایط آب‌وهوایی دو منطقه

¹ Bacteriostatic

جدول ۲- مقدار جذب (رشد) باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف انواع عسل‌های موردبررسی

انتروکوکوس فکالیس				اسینتوباکتر بومانی				غلظت عسل (درصد)
گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	گیاه پنج‌انگشت	گل کبود ۱۳۹۶	گل کبود ۱۳۹۵	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	گیاه پنج‌انگشت	گل کبود ۱۳۹۶	گل کبود ۱۳۹۵	
۰/۰۴ ^b	۰/۰۴ ^b	۰/۰۴ ^b	۰/۰۵ ^b	۰/۰۵ ^b	۰/۰۶ ^b	۰/۰۶ ^b	۰/۰۶ ^b	۱۰
۰/۰۳ ^c	۰/۰۴ ^c	۰/۰۳ ^c	۰/۰۴ ^c	۰/۰۴ ^c	۰/۰۵ ^c	۰/۰۴ ^c	۰/۰۶ ^c	۲۰
۰/۰۲ ^d	۰/۰۳ ^d	۰/۰۲ ^d	۰/۰۴ ^d	۰/۰۲ ^d	۰/۰۳ ^d	۰/۰۳ ^d	۰/۰۴ ^d	۵۰
۰/۰۲ ^e	۰/۰۳ ^d	۰/۰۲ ^d	۰/۰۳ ^e	۰/۰۲ ^e	۰/۰۳ ^d	۰/۰۲ ^e	۰/۰۴ ^d	۷۰

نتایج به صورت مقادیر میانگین \pm نحراف استاندارد بیان شده‌اند.

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار حداقل در سطح ($P < 0/05$) است.

تأثیر ترکیب عسل و آنتی‌بیوتیک بر رشد باکتری‌ها

نتایج حاصل از جذب پرتو در الیزاید در توسط چاهک‌های حاوی باکتری‌های موردبررسی در حضور غلظت‌های مختلف عسل و آمپی‌سیلین در جدول (۳) آورده شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود کمترین رشد (جذب) و در نتیجه بیشترین تأثیر مهار رشد بر هر دو باکتری مربوط به ترکیب عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان و آمپی‌سیلین بود. باتوجه به اینکه مقدار جذب توسط چاهک حاوی فقط محیط کشت و اسینتوباکتر بومانی (کنترل) و ۰/۱۰۸ و مقدار جذب توسط چاهک حاوی محیط کشت و اسینتوباکتر بومانی به اضافه آمپی‌سیلین، ۰/۱۰۳ به دست آمد، مشخص می‌شود که این آنتی‌بیوتیک در جلوگیری از رشد اسینتوباکتر بومانی مقدار کمی تأثیر داشته است. اما نظر به نتایج موجود در جدول (۳) آشکار می‌گردد که عسل توانسته به شدت مانع رشد اسینتوباکتر بومانی در حضور آنتی‌بیوتیک شود. در واقع استفاده هم‌زمان عسل و آمپی‌سیلین تأثیر بیشتری بر جلوگیری از رشد این باکتری داشته است. همچنین باتوجه به اینکه مقدار جذب محیط کشت و انتروکوکوس فکالیس (کنترل) ۰/۰۶۱ و مقدار جذب توسط چاهک حاوی محیط کشت و انتروکوکوس

فکالیس به اضافه آمپی‌سیلین ۰/۰۴۱ بود، مشخص می‌شود که این آنتی‌بیوتیک در جلوگیری از رشد این باکتری تأثیر خوبی داشته است و نظر به نتایج موجود در جدول (۳) مشخص می‌شود که عسل توانسته به‌طور مؤثرتری مانع رشد انتروکوکوس فکالیس در حضور آنتی‌بیوتیک شود.

لذا می‌توان گفت استفاده از عسل می‌تواند باعث جلوگیری از سمیت درمان با آنتی‌بیوتیک شود و حتی در صورت عدم دسترسی به آنتی‌بیوتیک‌های معمول برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های موردتحقیق این طرح از آمپی‌سیلین به‌همراه عسل برای به‌دست‌آوردن نتیجه مطلوب استفاده کرد.

نتایج تحقیق‌های دیگر آشکار نموده‌اند که عسل با تأثیر بر دیواره باکتری باعث تخریب باکتری می‌گردد، لذا احتمالاً عسل می‌تواند بر ضد تمام باکتری‌هایی که به آنتی‌بیوتیک‌های مؤثر بر دیواره از قبیل آمپی‌سیلین یا سایر لاکتام‌ها مقاوم شده‌اند به تنهایی یا به‌همراه آنها استفاده شود (Brudzynski & Sjaarda, 2014).

جدول ۳- مقدار جذب (رشد) باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف انواع عسل‌های موردبررسی به اضافه یک غلظت بهینه از آمپی‌سیلین

مقدار جذب (رشد) انتروکوکوس فکالیس				مقدار جذب (رشد) اسینتوباکتر بومانی				غلظت عسل (درصد)
گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	گیاه پنج‌انگشت	گل کبود ۱۳۹۶	گل کبود ۱۳۹۵	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	گیاه پنج‌انگشت	گل کبود ۱۳۹۶	گل کبود ۱۳۹۵	
۰/۰۲ ^c	۰/۰۳ ^c	۰/۰۳ ^c	۰/۰۴ ^c	۰/۰۲ ^c	۰/۰۵ ^c	۰/۰۴ ^c	۰/۰۶ ^c	۱۰
۰/۰۲ ^c	۰/۰۲ ^d	۰/۰۲ ^d	۰/۰۴ ^c	۰/۰۲ ^c	۰/۰۳ ^d	۰/۰۳ ^d	۰/۰۴ ^d	۲۰
۰/۰۲ ^d	۰/۰۲ ^{de}	۰/۰۲ ^d	۰/۰۳ ^d	۰/۰۲ ^d	۰/۰۲ ^e	۰/۰۲ ^e	۰/۰۳ ^e	۵۰
۰/۰۱ ^e	۰/۰۲ ^e	۰/۰۱ ^e	۰/۰۳ ^e	۰/۰۱ ^e	۰/۰۲ ^e	۰/۰۲ ^e	۰/۰۳ ^e	۷۰

نتایج به صورت مقادیر میانگین \pm نحراف استاندارد بیان شده‌اند.

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار حداقل در سطح ($P < 0/05$) است.

ضدمیکروبی احتمالاً مربوط به وجود مقادیر مختلف ترکیبات موجود در گیاه مورد تغذیه زنبور عسل است که به عسل راه یافته و در ایجاد اثر ضدمیکروبی آن نقش دارد. وجود آنزیم‌های کاتالاز و اکسیداز که اکسیدکننده‌های قوی هستند و همچنین وجود ترکیبات فلاونوئیدی موجب بروز خاصیت ضدمیکروبی در عسل می‌شود. در واقع اختلاف در قدرت ضدباکتریایی عسل بستگی به محل رویش گل یا گیاه، نوع گیاه و یا گل، نوع شهد و گرده‌ها دارد (Allen, Molan, & Reid, 1991; Taormina, 2001). در تحقیق حاضر نیز نوع گل و گیاهان مناطق مختلف تولیدی عسل که نواحی کوهستانی (کبود و پنج‌انگشت) و دشت تقریباً کویری (پنبه و آفتاب‌گردان) نیشابور بودند، تفاوت داشتند و همین مسئله روی کیفیت شهد گل و در نهایت عسل‌ها و اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آنها، تأثیر داشته است.

نتیجه‌گیری

باتوجه به نتایج مطالعه حاضر مشخص شد که عسل‌های مختلف مورد بررسی دارای کیفیت طبیعی بودند و در کنار اثر آنتی‌اکسیدانی مناسب، خواص ضدباکتریایی متفاوتی داشتند. در جلوگیری از رشد هر دو نوع باکتری گرم مثبت و گرم منفی اثر بسیار خوبی نشان دادند. لذا به نظر می‌رسد که باکتری‌ها هنوز توان مقابله با مواد ضدمیکروبی عسل‌ها را پیدا نکرده‌اند و می‌توان از عسل‌ها، به‌ویژه عسل پاییزه تازه تهیه‌شده گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان مستقلاً یا همراه آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین بر ضدباکتری‌های اتروکوکوس فکالیس و اسیتوباکتر بومانی استفاده نمود.

به‌طور کلی نتایج ضدمیکروبی عسل‌های مورد بررسی در این تحقیق با ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی‌شان مطابقت داشت. درحقیقت می‌توان انتظار داشت هرگاه عسل از نظر کیفیت مناسب و مطابق با استانداردها باشد، دارای خاصیت ضدمیکروبی است (Bertoncelj, Doberšek, Jamnik, & Golob, 2007;) (Kek, Chin, Yusof, Tan, & Chua, 2014).

همان‌گونه که در جدول‌های (۱) تا (۳) دیده می‌شود عسل گیاهان پنبه‌دانه و آفتاب‌گردان تقریباً از تمام ویژگی‌های مثبت فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی بیشتر از سایر عسل‌ها برخوردار بودند. در واقع این عسل بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی و پرولین را داشت و با وجود این ویژگی‌ها اثر ضدمیکروبی عسل گیاهان پنبه‌دانه و آفتاب‌گردان نیز بیشتر از سایر عسل‌ها بود. خاصیت ضدمیکروبی عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان به‌صورت ترکیب با غلظت بهینه آمپی‌سیلین تشدید شد و بیشترین اثر مهارکنندگی رشد را نشان داد. در مورد تمام عسل‌ها هم به‌طور کلی مخلوط عسل با آمپی‌سیلین باعث هم‌افزایی اثر ضدمیکروبی این دو شد و رشد را بیشتر مهار نمود. این نتیجه‌ها با نتایج حاصل از بررسی که در مورد اثر هم‌افزایی آمپی‌سیلین و عسل روی *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام شده مطابقت دارد (Ng, Lye, Chan, Lau, 2017). در تحقیقی مشخص شده است اثر ضدمیکروبی عسل به‌صورت ترکیب با شیر یا آنتی‌بیوتیک، نسبت به مصرف شیر یا عسل و یا آنتی‌بیوتیک به تنهایی، بیشتر است (Al-Jabri, 2005)، که این نیز با نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد. اثر

منابع

- بیک‌نژاد، د.، جلیلیان، ح. و چایچی، م. (۱۳۹۲). بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نمونه‌های عسل استان گلستان. *نوآوری در علوم و فناوری غذایی*، ۶(۲)، ۶۵-۷۱.
- پروانه، و. (۱۳۹۰). کنترل کیفی و آزمایش‌های شیمیایی مواد غذایی (چاپ ششم): انتشارات دانشگاه تهران.
- خدادادی، ج. و جامی، م. م. (۱۳۹۳). عسل درمانی: شگفتی‌های قرآن کریم (چاپ اول): نشر ندای سینا.
- رمزی، م.، کاشانی‌نژاد، م.، صادقی‌ماهونک، ع. و رضوی، س. (۱۳۹۳). مقایسه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و رفتار رئولوژیکی عسل‌های طبیعی با عسل‌های شکر و تقلبی. *نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، ۱۱(۴)، ۳۹۲-۴۰۷.
- doi:https://doi.org/10.22067/ijfstrj.v1394i11.28083

- سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۸۶). سبزیجات تازه بسته بندی شده برای آماده سازی-مشخصات و روش های آزمایش. (استاندارد ملی ایران، شماره ۱۰۰۸۲، چاپ اول). برگرفته از <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=9448>
- سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۲a). عسل - تعیین مقدار پرولین. (استاندارد ملی ایران، شماره ۱۱۱۴۵، چاپ اول). برگرفته از <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=1417>
- سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۲b). عسل-ویژگی ها و روش های آزمون (استاندارد ملی ایران، شماره ۹۲، تجدیدنظر هفتم). برگرفته از <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=36135>
- سازمان ملی استاندارد ایران. (۱۳۹۳). عسل-ویژگی ها و روش های آزمون. (استاندارد ملی ایران، شماره ۹۲، اصلاحیه شماره ۱). برگرفته از <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=44261>
- قرآن کریم. سوره نحل، آیه ۶۹.
- قیصری، ح. و حمیدیان شیرازی، الف. (۱۳۸۷). مقایسه و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تقلبات عسل های منطقه شیراز تولید شده در فصول مختلف. *پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران*، ۴(۲)، ۵۷-۶۹. doi:<https://doi.org/10.22067/ijstrj.v4i2.2083>
- کامکار، ا. و خدابخشیان، س. (۱۳۹۶). تعیین میزان ترکیبات فنولی، فعالیتهای آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی عسل سبلان. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، ۷۲(۱)، ۵۳-۶۱. doi:<https://doi.org/10.22059/jvr.2017.61290>
- لکزاده، ل.، قیصری، ح. و ماهیانه، ع. (۱۳۹۱). مقایسه ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و میکروبی عسلهای با منشاء گیاهی مختلف در استان اصفهان. *تحقیقات دامپزشکی و فرآوردههای بیولوژیک*، ۲۶(۳)، ۲۳-۳۰. doi:<https://doi.org/10.22092/vj.2013.101020>
- Abbasi, F., Samadi, F., Jafari, S. M., Ramezanzpour, S., & Shams Shargh, M. (2019). Ultrasound-assisted preparation of flaxseed oil nanoemulsions coated with alginate-whey protein for targeted delivery of omega-3 fatty acids into the lower sections of gastrointestinal tract to enrich broiler meat. *Ultrasonics Sonochemistry*, 50, 208-217. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.09.014> (in Persian)
- Abriouel, H., Omar, N. B., Molinos, A. C., López, R. L., Grande, M. J., Martínez-Viedma, P., . . . Galvez, A. (2008). Comparative analysis of genetic diversity and incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococcal populations from raw fruit and vegetable foods, water and soil, and clinical samples. *International Journal of Food Microbiology*, 123(1), 38-49. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.067>
- Ajlouni, S., & Sujirapinyokul, P. (2010). Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chemistry*, 119(3), 1000-1005. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.057>
- Al-Jabri, A. A. (2005). Honey, milk and antibiotics. *African Journal of Biotechnology*, 4(13) .(
- Allen, K., Molan, P., & Reid, G. (1991). The variability of the antibacterial activity of honey. *Apiacta*, 26(4), 114-121 .
- Almasaudi, S. B., Al-Nahari, A. A. M., Abd El-Ghany, E. S. M., Barbour, E., Al Muhayawi, S. M., Al-Jaouni, S., . . . Harakeh, S. (2017). Antimicrobial effect of different types of honey on Staphylococcus aureus. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1255-1261. doi:<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.08.007>
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Díaz, D., Estevez, Y., Romandini, S., Giampieri, F., . . . 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*, 48(8), 2490-2499. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.06.021>
- Amyes, S. G. B. (2007). Enterococci and streptococci. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29, S43-S52. doi:[https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(07\)72177-5](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(07)72177-5)
- Beiknejad, D., Jalilian, H. R., & Chaichi, M. J. (2014). Investigation of physicochemical properties of Golestan honey samples. *Innovation in Food Science and Teshnology (Journal of Food Science and Technology)*, 6(2), 65-71. (in Persian)

- Bertoncelj, J., Doberšek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), 822-828. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01.060>
- Bertoncelj, J., Golob, T., Kropf, U., & Korošec, M. (2011). Characterisation of Slovenian honeys on the basis of sensory and physicochemical analysis with a chemometric approach. *International journal of food science & technology*, 46(8), 1661-1671. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2011.02664.x>
- Bogdanov, S., & Martin, P. (2002). Honey authenticity. *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 93(3), 232-254 .
- Brudzynski, K., & Sjaarda, C. (2014). Antibacterial compounds of Canadian honeys target bacterial cell wall inducing phenotype changes, growth inhibition and cell lysis that resemble action of β -lactam antibiotics. *PLoS One*, 9(9), e106967. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0106967>
- Cantarelli, M. A., Pellerano, R. G., Marchevsky, E. J., & Camiña, J. M. (2008). Quality of honey from Argentina: study of chemical composition and trace elements. *The Journal of the Argentine Chemical Society*, 96(1-2), 33-41 .
- Davies, J. H. V. (1970). The Codex Alimentarius. *Journal of the Association of Public Analysts*, 8, 53-67 .
- Dunford, C., Cooper, R., Molan, P., & White, R. (2000). The use of honey in wound management. *Nursing Standard (through 2013)*, 15(11), 63-68 .
- Escuredo, O., Silva, L. R., Valentão, P., Seijo, M. C., & Andrade, P. B. (2012). Assessing Rubus honey value: Pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity. *Food Chemistry*, 130(3), 671-678. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.107>
- Eveillard, M., Kempf, M., Belmonte, O., Pailhoriès, H., & Joly-Guillou, M.-L. (2013). Reservoirs of *Acinetobacter baumannii* outside the hospital and potential involvement in emerging human community-acquired infections. *International Journal of Infectious Diseases*, 17(10), e802-e805. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.03.021>
- Ferreira, I. C. F. R., Aires, E., Barreira, J. C. M., & Estevinho, L. M. (2009). Antioxidant activity of Portuguese honey samples: Different contributions of the entire honey and phenolic extract. *Food Chemistry*, 114(4), 1438-1443. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.028>
- Fisher, K., & Phillips, C. (2009). The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology*, 155(6), 1749-1757. doi:<https://doi.org/10.1099/mic.0.026385-0>
- Gomes, S., Dias, L. G., Moreira, L. L., Rodrigues, P., & Estevinho, L. (2010). Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 544-548. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.029>
- Gheysari, H. R., & Hamidian, A. R. (2009). Comparison and evaluation of physicochemical properties and adulterations in produced honeys of shiraz province in different seasons. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 4(2), 57-69. doi:<https://doi.org/10.22067/iftstrj.v4i2.2083> (in Persian)
- Hussein, S. Z., Yusoff, K. M., Makpol, S., & Yusof, Y. A. M. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents increase with gamma irradiation in two types of Malaysian honey. *Molecules*, 16(8), 6378-6395. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules16086378>
- Ibenyassine, K., Mhand, R. A., Karamoko, Y., Anajjar, B., Chouibani, M., & Ennaji, M. (2007). Bacterial pathogens recovered from vegetables irrigated by wastewater in Morocco. *Journal of environmental health*, 69(10), 47-51 .
- Iglesias, A., Feás, X., Rodrigues, S., Seijas, J. A., Vázquez-Tato, M. P., Dias, L. G., & Estevinho, L. M. (2012). Comprehensive study of honey with protected denomination of origin and contribution to the enhancement of legal specifications. *Molecules*, 17(7), 8561-8577. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules17078561>
- Iranian National Standardization Organization. (2007). Packed fresh vegetable to ready for use-Specification and test methods. (ISIRI Standard No. 10082, 1st edition). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=9448> (in Persian)

- Iranian National Standardization Organization. (2013a). Honey- Determination of proline. (ISIRI Standard No. 11145, 1st edition). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=1417> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization. (2013b). Honey-Specification and test methods. (ISIRI Standard No. 92, 7th revision). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=36135> (in Persian)
- Iranian National Standardization Organization. (2014). Honey-Specification and text methods. (ISIRI Standard No. 92, Amendment No. 1). Retrieved from <http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=44261> (in Persian)
- Jimoh, F., Adedapo, A., Aliero, A., & Afolayan, A. (2008). Polyphenolic Contents and Biological Activities of *Rumex ecklonianus*. *Pharmaceutical Biology*, 46(5), 333-340. doi:<https://doi.org/10.1080/13880200801887765>
- Juszczak, L., Socha, R., Rożnowski, J., Fortuna, T., & Nalepka, K. (2009). Physicochemical properties and quality parameters of herbboneys. *Food Chemistry*, 113(2), 538-542. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.098>
- Karumathil, D. P., Gaffney, J., Surendran Nair, M., Kollanoor-Johny, A., & Venkitanarayanan, K. (2018). Trans-Cinnamaldehyde and Eugenol Increase *Acinetobacter baumannii* Sensitivity to Beta-Lactam Antibiotics. *Frontiers in microbiology*, 9, 1011. doi:<https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01011>
- Kek, S. P., Chin, N. L., Yusof, Y. A., Tan, S. W., & Chua, L. S. (2014). Total Phenolic Contents and Colour Intensity of Malaysian Honeys from the *Apis* spp. and *Trigona* spp. Bees. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, 150-155. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2014.11.022>
- Kamkar, A., & Khodabakhshian, S. (2017). Determination of the total phenolic, flavonoid and antioxidant activity of Sabalan Honey. *Journal of Veterinary Research*, 72(1), 53-61. doi:<https://doi.org/10.22059/jvr.2017.61290> (in Persian)
- Khodadadi, J., & Moazzen Jami, M. (2014). *Honey Therapy: The Wonders of the Holy Quran* (Vol. First Edition): Neda Sina Publications. (in Persian)
- Lakzadeh, L., Gheisari, H. R., & Mahianeh, A. H. (2013). Comparison microbial and physicochemical characterization of different origin plant honeys in Esfahan province. *Veterinary Researches & Biological Products*, 26(3), 23-30. doi:<https://doi.org/10.22092/vj.2013.101020> (in Persian)
- Lin, M.-F., & Lan, C.-Y. (2014). Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*, 2(12), 787-814. doi:<https://doi.org/10.12998/wjcc.v2.i12.787>
- Moniruzzaman, M., Sulaiman, S., Azlan, S., & Gan, S. (2013). Two-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey. *Molecules*, 18(12), 14694-14710. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules181214694>
- Moreti, A. C. d. C. C. (2006). Composição físico-química de amostras de pólen coletado por abelhas africanizadas *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) em Piracicaba, Estado de São Paulo. *Ciência Rural*, 36(3), 949-953 .
- Ng, W.-J., Lye, P.-Y., Chan, Y.-J., Lau, Z.-K., & Ee, K.-Y. (2017). Synergistic effect of trigona honey and ampicillin on *Staphylococcus aureus* isolated from infected wound. *International Journal of Pharmacology*, 13(4), 403-407. doi:<https://doi.org/10.3923/ijp.2017.403.407>
- Novovic, K., Mihajlovic, S., Vasiljevic, Z., Filipic, B., Begovic, J., & Jovic, B. (2015). Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* from Serbia: Revision of CarO classification. *PLoS One*, 10(3), e0122793
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H., & Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, 18(1), 52-58. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.08.007>
- Parvaneh, V. (2011). *Food Quality control and chemical testing* (Vol. 6 th Edintion): Tehran University Publishing. (in Persian)
- Piazza, M., Accorti, M., & Persano Oddo, L. (1991). Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apicoltura*, 7(5), 1-63 .
- Ramzi, M., Kashaninejad, M., Sadeghi Mahoonak, A. R., & Razavi, S. M. A. (2015). Comparison of physicochemical and rheological characteristics of natural honeys with adulterated and sugar honeys. *Iranian*

- Foos Science and Technology Research Journal Quarterly*, 11(4), 392-407. doi:<https://doi.org/10.22067/iftstrj.v1394i11.28083> (in Persian)
- Ray, C. G., & Ryan, K. J. (2004). *Sherris medical microbiology: an introduction to infectious diseases*: McGraw-Hill.
- Saxena, S., Gautam, S., & Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food Chemistry*, 118(2), 391-397. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.05.001>
- Seiffert, S. N., Tinguely, R., Lupo, A., Neuwirth, C., Perreten, V., & Endimiani, A. (2013). High Prevalence of Extended-Spectrum-Cephalosporin-Resistant Enterobacteriaceae in Poultry Meat in Switzerland: Emergence of CMY-2- and VEB-6-Possessing *Proteus mirabilis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(12), 6406-6408. doi:<https://doi.org/10.1128/aac.01773-13>
- Silici, S., & Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1), 69-73. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.046>
- Silva, L. R., Videira, R., Monteiro, A. P., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, 93(1), 73-77. doi:<https://doi.org/10.1016/j.microc.2009.05.005>
- Smolyakov, R., Borer, A., Riesenber, K., Schlaeffer, F., Alkan, M., Porath, A., . . . Gilad, J. (2003). Nosocomial multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* bloodstream infection: risk factors and outcome with ampicillin-sulbactam treatment. *Journal of Hospital Infection*, 54(1), 32-38. doi:[https://doi.org/10.1016/S0195-6701\(03\)00046-X](https://doi.org/10.1016/S0195-6701(03)00046-X)
- Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Galkowska, D., Fortuna, T., & Wiczak, T. (2011). Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. *International journal of food science & technology*, 46(3), 528-534. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02517.x>
- Tang, S. S., Apisarnthanarak, A., & Hsu, L. Y. (2014). Mechanisms of β -lactam antimicrobial resistance and epidemiology of major community- and healthcare-associated multidrug-resistant bacteria. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 78, 3-13. doi:<https://doi.org/10.1016/j.addr.2014.08.003>
- Taormina, P. J., Niemira, B. A., & Beuchat, L. R. (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*, 69(3), 217-225. doi:[https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00505-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00505-0)
- Terrab, A., Díez, M. J., & Heredia, F. J. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*, 79(3), 373-379. doi:[https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00189-9](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00189-9)
- Tong, Z., Zhang, Y., Ling, J., Ma, J., Huang, L & ,Zhang, L. (2014). An in vitro study on the effects of nisin on the antibacterial activities of 18 antibiotics against *Enterococcus faecalis*. *PLoS One*, 9(2), e89209. doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089209>
- The Quran. An-Nahl, 69. (in Persian)
- Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Zaldivar-Cruz, J. M., Kuri, V., Fernández-López, J., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Pérez-Álvarez, J. (2010). Aroma profile and physico-chemical properties of artisanal honey from Tabasco, Mexico. *International journal of food science & technology*, 45(6), 1111-1118 doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02243.x>
- White, J., & Doner, L. W. (1980). *Honey composition and properties* (Vol. 335). Washington, DC, USA, Wound Care 4, 155.
- Zainoldin, K., & Baba, A. (2009). The effect of *Hylocereus polyrhizus* and *Hylocereus undatus* on physicochemical, proteolysis, and antioxidant activity in yogurt. *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 60, 361-366 .

The Investigation of the Physicochemical and Antioxidant Properties of Several Types of Honey and Comparing their Antimicrobial Effect on *Acinetobacter baumannii* and *Enterococcus faecalis*

Mahbubeh Dehghan¹, Jamshid Mehrzad^{2*}

1- Department of Microbiology, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

2- Assistant Professor, Department of Biochemistry, Neyshabur Branch, Islamic Azad University, Neyshabur, Iran

*Corresponding author (mehrzdjam@iau-neyshabur.ac.ir)

Abstract

Nowadays, many complications from antibiotics have been created for humans, and bacteria have become resistant to a large number of them. Therefore, many researchers have focused on natural substances. The purpose of this study was to investigate the physicochemical and antioxidant characteristics of different honey including Pervoskia abrotanoides, spring product of 2016, Pervoskia abrotanoides, spring product of 2017, Chaste tree, spring product of 2017, cotton and sunflower, fall of 2017, from Neyshabur, On *Acinetobacter baumannii* (PTCC:1797) and *Enterococcus faecalis* (PTCC: 2015). Also, the comparison of the antimicrobial activity of these honeys in different concentrations (10, 20, 50 and 70%) was performed without the use of ampicillin and with ampicillin on the bacteria. The results showed that although all honey had a good quality, the honey of cotton and sunflower, significantly had better physicochemical properties than others. This honey had a higher content of phenolic compounds, antioxidant activity, acidity and proline and a higher specific gravity, and also had lower moisture and overall improved quality. According to the findings, all of the studied honeys had bacteriostatic properties and an increase in the concentration of honey increased their antimicrobial properties. It was also found that with the addition of ampicillin to honey, their antimicrobial effect increased. In terms of antimicrobial properties, the honey taken from cotton and sunflower was the most effective in comparison with the rest of the honey. Finally, the honey and especially fresh honey produced by cotton and sunflower with ampicillin can be effective in preventing the growth of *Acinetobacter baumannii* and *Enterococcus faecalis* bacteria.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, Antimicrobial, *Enterococcus faecalis*, Honey, Physicochemical