مطالعه کاربرد روش‌های دقیق لابراتواری و سنتی جهت شناسایی عسل خالص

پوهنیار نصیراحمد سروری

دیپارتمنت تکنالوژی و حفظ‌الصحه مواد غذایی، پوهنځی علوم وترنری، پوهنتون کابل، کابل، افغانستان

ایمیل: Nasirsarwary97@gmail.com

چکیده

امروزه، روش‌های زیادی لابراتوری و سنتی به‌منظور تعیین کیفیت عسل انکشاف‌یافته که هر کدام روش‌ها دارای ویژه‌گی‌های خاص‌اند. معمولاً روش‌های سنتی سریع، آسان و کم هزینه بوده؛ ولی دقت کم‌تر دارند، برعکس روش‌های لابراتواری دارای دقت کافی بوده؛ اما نیاز به هزینه و امکانات بیش‌تر است. عسل یک غذای با ارزش باستانی است و در بیش‌تر موارد مصرف‌کنندگان خود را با ویژه‌گی‌های دوایی خود مسحور کرده است؛ لذا کیفیت عسل طبیعی چندین برابر بیش‌تر از عسل مصنوعی می‌باشد. متأسفانه در سال‌های اخیر تقلبات عسل افزایش یافته که منجر به بی‌اعتمادی و عدم علاقه‌مندی مصرف‌کنندگان به این محصول ارزش‌مند گردیده است. شناسایی عسل تقلبی و بی‌کیفیت در اکثر کشورها به دو روش؛ لابراتواری و سنتی انجام می‌شود. روش‌های طیف‌سنجی از جمله روش‌های پرکاربرد، سریع، دقیق و غیر مخرب می‌باشند. برعلاوه روش‌های کروماتوگرافی فوق‌العاده دقیق بوده؛ اما زمان و هزینه بیش‌تر نیاز دارند.

اصطلاحات کلیدی: عسل؛ روش سنتی؛ روش لابراتواری؛ تقلب؛ طیف‌سنجی؛ کروماتوگرافی

Studying the Application of Precise Laboratory and Traditional Methods to Identify Pure Honey

Jr. Teaching Asstt Nasir Ahmad Sarwary

Department of Food technology & Hygiene, Faculty of Veterinary, Kabul University, Kabul, Afghanistan

Email: Nasirsarwary97@gmail.com

Abstract

There are various methods to assess the quality of honey, both laboratory and traditional. Traditional methods are fast, simple and inexpensive, but they may not be very precise. On the other hand, laboratory methods are more accurate, but they also require more resources and equipment. Honey is an ancient and valuable food that has many health benefits for its consumers. However, honey frauds have increased in recent years, which has reduced the trust and interest of consumers in this product. To identify adulterated and low-quality honey, most countries use two approaches: Laboratory and traditional. Among the laboratory methods, spectroscopy is one of the most common, rapid, accurate and non-invasive techniques. Chromatography is another highly accurate technique, but it takes more time and money.

Keywords: Honey; Traditional Method; Laboratory Method; Fraud; Spectroscopy; Chromatography

مقدمه

عسل به شهد گل‌ها اطلاق می‌شود که زنبور عسل پس از تغذیه از گیاهان مختلف، آن‌را ساخته باشد. به‌عبارت دیگر عسل ماده شیرین و غلیظی است که توسط زنبوران عسل از شهد گل‌ها جمع‌آوری شده و تغییر شکل می‌یابد و سپس در داخل حفره‌های مومی‌کندو ذخیره می‌شود(۱).

ترکیب عسل نسبتاً متفاوت بوده و در درجه اول بستگی به منبع گل دارد. برعلاوه برخی از عوامل خارجی مانند عوامل فصلی، محیط‌زیست و نحوه جمع‌آوری عسل نیز تأثیرگذار اند. عسل یک محلول فوق اشباع شده قندی است که فرکتوز و گلوکوز مواد تشکیل‌دهنده آن می‌باشند. عسل هم‌چنان حاوی مواد معدنی، پروتیین‌ها، امینواسیدهای آزاد، انزایم‌ها و ویتامین‌ها می‌باشد(۲).

ستندردهای Codex Alimentarius عسل را به‌عنوان یک ماده شیرین طبیعی از شهد گیاهان یا ترشحات قسمت‌های زنده گیاهان تعریف می‌کند که توسط زنبورهای عسل ذخیره و کم‌آب می‌شود تا خواص غذایی آن بهبود یافته و برای انسان قابل مصرف گردد(۳).

صنایع غذایی یکی از صنایع حیاتی و درحال توسعه در سراسر جهان بنابر رشد فوق‌العاده جمعیت انسانی و افزایش علاقه‌مندی مصرف‌کنندگان به مصرف محصولات با کیفیت، می‌باشد. علاوه‌براین، ثابت گردیده که ممکن محصولات غذایی با کیفیت پایین و غذاهای ناسالم تأثیرات نامطلوب بالای سلامت مصرف‌کنندگان داشته باشند. تقلبات غذایی این خطر را چند برابر افزایش می‌دهد؛ زیرا ماهیت غذا تغییر می‌نماید. تقلب غذایی به‌عنوان عمل عمدی در کاهش کیفیت غذا با افزودن یا تعویض مواد بی‌کیفیت یا حذف مواد مهم توصیف می‌شود. زمانی‌که عناصر ارزان‌تر و کم‌عیار به یک محصول اصلی اضافه گردد، در نتیجه سلامت مصرف‌کننده در خطر بوده و به آن غذا، غذای تقلبی اطلاق می‌گردد. عسل نیز به‌عنوان یکی از رایج‌ترین غذاها در سراسر جهان همواره مورد تقلب قرار گرفته است. بنابراین پروتوکول‌های کنترول کیفیت و مصئونیت آن در محراق توجه بسیاری از کمیته‌های بین‌المللی قرار گرفته است(۳).

عسل به‌عنوان غذای باکیفیت شناخته شده؛ ولی در برابر تقلب، برچسب نادرست و مخلوط غیراخلاقی با عسل ارزان‌تر و کم عیار، قندها و سایر مواد آسیب‌پذیرتر است. تقلب در مواد غذایی یکی از نگرانی‌های عمده مصرف‌کنندگان بوده؛ زیرا نه تنها کیفیت محصولات غذایی را کاهش می‌دهد؛ بلکه اثرات نامطلوبی بالای صحت نیز دارد(۴، ۵). بنابراین به آزمایشات معتبر مواد غذایی و زهرشناسی مواد تقلبی به‌منظور اطمینان‌دهی مصرف‌کننده در برابر فعالیت‌های تقلبی نیاز می‌باشد. طبق مقررات تعیین

شده توسط Codex Alimentarius، مصرفکنندگان حق دارند اطلاعات واقعی را در مورد غذایی که قرار است مصرف کنند، دریافت نمایند(٦).

عسل نباید دارای هیچگونه مواد افزودنی، ماده خارجی، طعمدهنده و عطر بوده که بهخصوص در طول جمعآوری و نگهداری از مواد خارجی جذب عسل میشود و یا هیچ ماده خاصی آن حذف نشود. همچنین عسل نباید به حدی حرارت داده شود که ترکیب اساسی آن تغییر نموده و کیفیت آن کاهش یابد. درحال حاضر یک روش مؤثر برای کنترل تولید عسل تقلبی وجود ندارد(۷).

عسل کاملاً طبیعی، سرشار از مواد غذایی و حیات بخش بوده و میتواند تمام نیازهای غذایی را برطرف کند؛ زیرا زنبور تمام املاح و ویتامینهای موجود در گل را بهشکل عسل میپروراند و آنرا قابل جذب در خون میسازد. کیفیت عسل طبیعی چندین برابر بیشتر از عسل مصنوعی بوده که در نتیجه تغذیه زنبور با آب و شکر بهدست میآید(۸).

رایجترین شربتهای قند برای تقلب عسل عبارتند از: شربت جواری با فرکتوز بالا، شربت قند معکوس و شربت نیشکر میباشند؛ برعلاوه از مواد دیگر جهت تقلب در عسل نیز استفاده میشود، مانند آب، کیله، گندم و شربت یا آرد جواری(۸، ۹).

حرارت بیش از حد طولانی عسل تا حرارت بالاتر از ۵۰ درجه سانتیگرید باعث از بین رفتن مواد با ارزش موجود در عسل شده و در نتیجه بالای کیفیت عسل تأثیر منفی میگذارد. عسل حرارت دیده (بیش از حد گرم شده) ارزش بیولوژیکی خود را از دست داده، میزان ویتامینها و انزایمها به میزان قابل توجهی در آن کاهش مییابد(۳).

ستندردهای عسل طبیعی یا خالص

ستندردهای عسل در هر کشور متفاوت است که آنها را میتوان در پروسه استخراج، شکرک زدن عسل، عسل شانه یا مومدار، شانه با قاب کمعمق، بریده شده و یا کُل شانه عسل در نظر گرفت. سایر مواردی که در تهیه و تولید عسل اهمیت دارند، شامل: میزان قند، میزان رطوبت، طعم، رنگ و عطر عسل میباشند. گاهی اوقات در توزیع و فروش عسل مواردی چون: یکنواختی رنگ، پاکیزگی برش، ظاهر شان و نحوه چینش و یکنواختی وزن نیز ذکر شده است (۱۰). بر اساس ستندرد کودکس عسل با کیفیت باید فاقد مخلوط مواد غذایی، مواد کیمیاوی و بیوکیمیاوی بوده و نیز با حرارت مواجه نگردیده باشد. همچنان دارای ترکیبات ذیل با مقادیر مشخص باشد:

جدول۱: ستندرد کودکس ۲۰۰۰ برای عسل(۱۱)

محتوا	نوعیت	مقدار
رطوبت	تمامی‌عسل‌ها	بیش‌تر از ۲۰ فیصد نباشد
	عسل کالونا	بیش‌تر از ۲۳ فیصد نباشد
فرکتوز و گلوکوز	تمامی‌عسل‌ها	کم‌تر از ۶۰گرام/۱۰۰گرام نباشد
	عسل خربوزه (Honeydew)	کم‌تر از ۴۵گرام/۱۰۰گرام نباشد
سکروز	تمامی‌عسل‌ها	بیش‌تر از ۵گرام/۱۰۰گرام نباشد

روش‌های تشخیص عسل خالص

تفکیک عسل خالص از ناخالص در اکثر کشورها به دو روش که شامل روش لابراتواری و روش سنتی می‌باشد، صورت می‌گیرد. از جمله روش‌های سنتی بیش‌تر رایج بوده، چون‌که سریع، آسان و کم هزینه یا بدون هزینه می‌باشند. ولی دقت در این روش‌ها کم‌تر بوده و در اکثر حالات جواب‌گو بوده نمی‌تواند؛ لذا نیاز است تا از روش‌های دقیق و مؤثر لابراتواری استفاده شود تا مانع مصرف محصول تقلبی گردد. در این‌جا در مورد هر روش به تفصیل می‌پردازیم:

الف. روش‌های لابراتواری

۱. **روش طیف‌سنجی (Spectroscopy/MS)**: طیف‌سنجی شامل یک‌تعداد تخنیک‌های متفاوت بوده که در این عملیه از یک شعاع برای دست‌یابی به ساختار و خواص مواد استفاده می‌گردد و در نتیجه اثر متقابل حاصله از شعاع و ماده مورد مطالعه قرار می‌گیرد. اصل اساسی و مشترک بین همه تخنیک‌های طیف‌سنجی تاباندن یک شعاع (بخشی از نور، گروپ الکترون و ...) به یک نمونه و مشاهده نحوه واکنش ماده یا نمونه به هم‌چون محرک است. به‌طور عمده روش‌های مختلف طیف‌سنجی بر اساس سه پارامتر دسته‌بندی می‌گردند. ۱. این‌که از چه نوع اشعه (ماهیت اشعه) برای اندازه‌گیری استفاده شده؛ ۲. این‌که چه روشی (ماهیت فعل و انفعال) برای اندازه‌گیری به‌کار گرفته شده؛ ۳. این‌که چه موادی با طیف‌سنجی تحلیل و تجزیه می‌گردد(۱۲).

این روش امروزه از جمله روش‌های پرکاربرد بوده که برای شناسایی عسل‌های تقلبی استفاده شده و روش‌های متنوع براساس این روش انکشاف داده شده است که هر یک دارای کارآیی‌های خاص‌اند(۱۳).

طیف‌سنجی تابش نزدیک مادون سرخ (Near Infrared Transflectance Spectroscopy/NIR): این روش برای تحلیل و تجزیه نمونه‌ها استفاده شده که با استفاده از تابش مادون سرخ ویژگی‌ها مشخصه‌یابی شده و ترکیبات حاصل می‌گردد(۱۲).

این روش سریع، غیر مخرب و نسبتاً ارزان بوده که برای استفاده به‌عنوان یک تخنیک غربال‌گری در کنترل کیفیت عسل مناسب می‌باشد. این روش زیادتر برای شناسایی منشأ جغرافیایی عسل استفاده شده و از جمله روش‌های پرکاربرد و خوب برای عسل‌های فلتر ناشده است(۱۴).

روش طیف‌سنجی فلوروسنس (Front-Face Fluorescence Spectroscopy): در این روش یک مالیکول براساس خواص فلورسنت آن تجزیه و تحلیل می‌گردد و یا به‌عباره دیگر در این روش شعاع نور با ماده برخورد نموده در اثر این برخورد الکترون‌های موجود در مالیکول‌ها آزاد می‌شوند و با توجه به ناپایدار بودن الکترون‌های آزاد، این الکترون‌ها به حالت اولی خود باز می‌گردند و در نتیجه نوری را در طول موج خاص از خود منتشر می‌کنند(۱۲).

توسط این روش می‌توان ارزیابی کیفیت و تصدیق اصلی بودن عسل را دریافت کرد و به اساس شناسایی منشأ گیاهی عسل عمل می‌کند(۱۵).

طیف‌سنجی تبدیل فوریر به مادون سرخ با تابش تضعیف شده (Fourier Transform Infrared Spectroscopy(FTIR) with Attenuated Total Reflectance(ATR)): در این طیف‌سنجی نور مادون سرخ به نمونه تابانده شده و طیف جذبی یا نشری آن اندازه‌گیری می‌شود، با توجه به این‌که انرژی اشعه مادون سرخ ضعیف بوده و نمی‌تواند الکترون را به میزان بالا در ماده آزاد نماید؛ بنابراین به‌جای آن ممان دو قطبی (Electric dipole moment) مالیکول‌ها تغییر می‌کند (۱۲).

برخلاف تخنیک‌های زمان‌بر تجزیه و تحلیل نسبت ایزوتوپ کاربن در این روش زودتر انجام می‌شود و از جمله روش‌های سریع، غیرمخرب و دقیق برای تعیین نوعیت عسل است (۱۶).

تبدیل فوریر طیف‌سنجی رامان (Fourier Transform Raman Spectroscopy): یک روش تحلیلی بوده که در آن از نور پراگنده برای اندازه‌گیری حالت‌های انرژی ارتعاشی یک‌نمونه استفاده می‌شود. در این طیف‌سنجی نور تابشی در اثر برخورد با مالیکول پراکنده می‌شود و این طیف‌سنجی می‌تواند اطلاعات کیمیاوی، ساختاری و هم‌چنین شناسایی مواد را از طریق مشخصه رامان آن‌ها فراهم نماید. در واقع طیف رامان یک ماده، اثر انگشت آن ماده به‌شمار می رود (۱۷).

در این روش برای تحریک از لیزر ND:YAG استفاده شده و یک تداخل سنج مایکلسون (Michelson interferometer) هم برای هدایت نور لیزر به‌کار برده می‌شود. نور پراکنده شده از نمونه تحت زاویه ۹۰ یا ۱۸۰ درجه جمع‌آوری شده و به سمت شناساگر (Detector) هدایت می‌گردد(۱۷).

طیف‌سنجی FT-Raman با موفقیت برای تشخیص شربت‌های معکوس لبلبو و نیشکر در عسل قابل استفاده است. هم‌چنین این روش برای تمایز میان انواع تقلبات بدون منشا گُلی عسل نیز استفاده می‌شود(۱۸).

تجزیه و تحلیل نسبت ایزوتوپ کاربن پایدار (Stable Carbon Isotope Ratio Analysis/SCIRA): با نسبت ایزوتوپ $C_{۱۲}$ /$C_{۱۳}$ تعیین می‌گردد که این نسبت در گیاهان$C_۴$ یا CAM در مقایسه با گیاهان $C_۳$ متفاوت است. از این روش به‌منظور شناسایی تقلب غیرمستقیم عسل استفاده می‌شود(۱۹).

روش‌های کالوری‌متری با کاربرد DSC ((Calorimetric methods (Application of DSC): استفاده از DSC امکان استفاده از انتقال حرارت شیشه را برای تمایز بین عسل‌ها و شربت‌ها نشان می‌دهد و یک تخنیک قدرت‌مند برای توصیف رفتار حرارتی عسل‌ها از سایر مواد است(۲۰).

۲. **روش کروماتوگرافی (Chromatography):** کروماتوگرافی یک روش خاص جداسازی بوده که برای تفکیک اجزای تشکیل‌دهنده یک مخلوط یا ماده کیمیاوی به‌کار می‌رود. در نتیجه، توسط روش کروماتوگرافی به ساده‌گی می‌توان اجزای تشکیل‌دهنده مخلوط‌ها را با عبور دادن بخش متحرک (Mobile phase) از روی بخش ساکن (Stationary phase)، از یک‌دیگر جدا و تحلیل و تجزیه نمود. هم‌چنان از جمله روش‌های بسیار دقیق بوده؛ ولی زمان بیش‌تر و هزینه بیش‌تر نیاز دارد(۲۱).

کروماتوگرافی گازی (Gas Chromatography/GC) و کروماتوگرافی مایع (Liquid Chromatography/LC): اگر بخش متحرک گاز باشد، کروماتوگرافی گازی نامیده شده و اگر بخش متحرک مایع باشد، کروماتوگرافی مایع نامیده می‌شود(۲۱).

این روش را می‌توان جایگزین تحلیل ایزوتوپی دانست که دارای محدودیت‌ها است. این روش بیش‌تر برای شناسایی موجودیت شربت جواری و شربت قند معکوس در عسل استفاده می‌شود. عسل که دارای رنگ تاریک می‌باشد، قیمت بیش‌تر دارد. بنابراین به این منظور بوره ذوب شده (Caramel) به عسل اضافه می‌گردد. لذا روش کروماتوگرافی مایع از جمله روش‌های خوب برای شناسایی این نوع عسل است(۹).

کروماتوگرافی تبادل انیونی با کارایی بالا با تشخیص جریان امپرومتریک (High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection/HPAEC-PAD): یکی از روش‌های پرکاربرد کروماتوگرافی بوده که امکان جداسازی آیون‌ها و مالیکول‌های قطبی را با استفاده از تبادل‌گر (Exchanger) آیونی فراهم می‌نماید. این روش از دو بخش؛ متحرک و ساکن تشکیل گردیده است(۲۱).

یک روش خوب برای شناسایی انواع گل عسل است. این روش نسبت به سایر روش‌ها زمان کم‌تر و هزینه کم‌تر نیاز داشته و معمولاً به‌منظور شناسایی تقلبات غیرمستقیم عسل استفاده می‌شود(۲۲).

کروماتوگرافی مایع جفت شده به ایزوتوپ نسبت طیف‌سنجی جامد(Liquid Chromatography Coupled to Isotope Ratio Mass Spectrometry/HPLC-IRMS): از جمله روش جدید نسبت به روش‌های موجود بوده و از نظر زمان تحلیل، حساسیت، عدم آماده‌سازی نمونه، کاهش مصرف معرف‌ها و ساده‌گی روش کار مزایایی بیش‌تر دارد(۲۳).

این روش برای تمام انواع تحلیل و تجزیه بیوکیمیاوی قابل استفاده است. در این روش از بخش متحرک مایع استفاده شده و از ذرات بسیار کوچک و فشار نسبتاً بالا کار گرفته می‌شود. در HPLC، نمونه مورد نظر توسط یک مایع با فشار بلند به داخل ستون کروماتوگرافی وارد می‌گردد(۲۱).

برعلاوه، اولین روش ایزوتوپی است که امکان تشخیص افزودن قند لبلبو در عسل را داشته و اکثراً به‌منظور شناسایی تقلب غیرمستقیم عسل استفاده می‌شود(۲۳).

۳. **روش ایمیونولوژیکی (Immunoassays):** بر اساس تعامل انتی‌بادی و انتی‌جن عمل کرده و یک روش تحلیلی بر مبنای ایمیونولوژی است. معمولاً برای تعیین خالصیت عسل بیش‌تر از روش ایمیونولوژیکی انزایمی‌کار گرفته می‌شود. برعلاوه قالب‌های ایمیونولوژیکی (Kit) مخصوص برای شناسایی عسل تقلبی توسعه داده شده که بر اساس پروتیین‌ها و انزایم‌های موجود در عسل عمل می‌کند(۱۳).

مشخصات پروتیین (Protein characterization): وزن مالیکولی پروتیین‌های اصلی موجود در عسل نظر به نوع زنبور عسل متفاوت‌اند. بنابراین اندازه‌گیری پروتیین‌های اصلی در عسل روش مفید برای تشخیص عسل تولید شده از انواع مختلف زنبور عسل است(۱۳).

روش انزایمی(Enzymatic Method): انزایم‌های موجود در عسل (گلوکوز اوکسیدیز، امیلاز، الفا-گلوکوزیدیز، بیتا-گلوکوزیدیز، پروتییز) یک شاخص مهم برای کنترل کیفیت هستند. فعالیت اینورتیز (Invertase) یا دیاستیز (Diastase) به‌عنوان شاخص آسیب حرارتی به عسل استفاده می‌شود. در روش انزایمی بیش‌تر از نشان‌گر (Marker) انزایمی استفاده می‌گردد، چون‌که به‌وسیله تغییر رنگ نمونه نتیجه را مشخص می‌نماید. برعلاوه از روش‌های ایزوالکتریک متمرکز (Isoelectric Focusing/IEF)، نیروی برقی SDS-PAGE (Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis)، بیوسنسور یا حس‌گر حیاتی (Biosensor) و الکترود کاربن (Screen-printed carbon electrode) نیز به این منظور استفاده می‌شود(۱۳).

الیزا (Enzyme-linked immunosorbent assay/ELISA): آزمایش ایمیونولوژیکی بوده و بیش‌تر برای دریافت انتی بیوتیک در عسل کاربرد دارد. هم‌چنان قالب‌های (Kit) مخصوص الیزا برای شناسایی تقلبات متنوع عسل بر علاوه قالب‌های (Kit) انتی‌بیوتیک نیز انکشاف داده شده است (۲۴).

۴. **روش میکروسکوپی(Microscopic detection):** از جمله روش‌های سریع و ساده بوده که اولاً در این روش نمونه عسل با آب رقیق و سنترفیوژ شده، رسوبات خشک شده در روی سلاید با جلاتین گلیسیرین هموار می‌شود و در اخیر بعد از رنگ‌آمیزی با محلول فیوشین‌الکهول تحت میکروسکوپ مشاهده می‌گردد. تجزیه و تحلیل میکروسکوپی عسل‌های تقلبی با قند نیشکر حاوی حجرات پارانشیما، عروق یک حلقه‌یی و حجرات اپیدرمی‌اند. به‌طور کلی روش میکروسکوپی یک روش غربال‌گری خوب برای تشخیص تقلب عسل با محصولات قند نیشکر است(۲۵).

۵. **روش کیمیاوی هایدروکسی میتایل فورفورال (Hydroxymethyl furfural/HMF):** آزمایشی است که برای تفکیک عسل حرارت دیده استفاده می‌شود. هایدروکسی میتایل فورفورال یک الدیهاید حلقوی معروف به ۵-هایدروکسی میتایل فورفورال است که در اثر تخریب قند از طریق واکنش میلارد (واکنش قهوه‌یی غیر انزایمی) در هنگام پروسس عسل با حرارت بالا تولید می‌شود(۳).

٦. **زبان برقی (Electronic Tongue):** حس‌گر طعم از جمله روش‌های کم کاربرد بوده که اجزای یک مخلوط محلول در عسل را شناسایی می‌کند. شناسایی در این روش از طریق تشخیص الگو و درجه‌بندی توسط نرم‌افزار کمپیوتری صورت می‌گیرد(۲٦).

۷. **میتا بارکود DNA (DNA Metabarcoding):** از جمله روش‌های پرکاربرد PCR بوده که برای شناسایی تقلب عسل با منشأ گیاهی و نوعیت زنبور استفاده می‌شود. برعلاوه روش تکسوترپیسیتی (Thixotropicity) از جمله این روش‌ها بوده که براساس خاصیت چسپندگی (Stickiness) و ریولوژی یا خاصیت تغییر شکل (Rheology) عمل می‌کند و دارای قالب‌های (Kit) مخصوص است. عسل‌های تقلبی مخلوط شده با شربت فرکتوز و سکروز توسط روش ریولوژی یا خاصیت تغییر شکل به بسیار آسانی شناسایی می‌شوند و هم‌چنان توسط خاصیت چسپندگی عسل نارسیده و حرارت دیده از عسل با کیفیت تفکیک می‌شود(۲۷).

روش تجزیه گرده (Pollen Analysis Method): این روش به اساس استخراج DNA از گرده در عسل عمل می‌کند و یکی از قدیمی‌ترین و پر زحمت‌ترین روش‌هاست که به پرسونل لابراتواری بسیار ماهر و آموزش دیده نیاز دارد. از این روش جهت شناسایی منشأ گیاهی عسل استفاده می‌شود(۲۷).

برعلاوه این روش‌ها، روش‌های دیگر لابراتوار نیز وجود دارد؛ ولی در حال حاضر تشخیص تقلبات عسل توسط روش‌های فوق صورت می‌گیرد:

جدول۳: آزمایشات لابراتواری مؤثر به‌کار برده‌شده در عسل‌های تقلبی (۳)

تقلبات	آزمایش کاربردی
شیره برنج (RM)	PCR
شربت بوره (GS)	DSC
شربت فرکتوز (HFS)	HPLC و SCIRA
شربت جواری (CS) و شربت جواری با فرکتوز بالا (HFCS)	HPAEC-PAD
شربت برنج (RS)	طیف‌سنجی فلوروسنس
شربت جواری (CS)	کروماتوگرافی گازی با طیف‌سنجی آیونی
شربت اینولین با فرکتوز بالا (HFIS)	GC و MS
شربت جواری با فرکتوز بالا (HFCS)	طیف‌سنجی رامان
قند معکوس (IS) و شربت جواری (CS)	MS و طیف‌سنجی آیونی
شربت جواری (CS)	IRMS
RS, HFCS, CS, IS	IRMS
عسل ارزان (Rape honey)	LC و برقی و کیمیاوی
عسل ارزان و شربت جواری با فرکتوز بالا	طیف‌سنجی لیزری

ب- روش‌های سنتی

این روش‌ها دارای دقت پائین بوده و در تحقیقات علمی فاقد استفاده‌اند؛ ولی در افغانستان و سایر کشورها بنابر عدم دست‌رسی حداکثر مردم به لابراتوارهای مجهز این روش‌ها قابل تطبیق بوده و تا حدی جواب‌گو و قناعت بخش است که در زیر هریک ذکر گردیده‌اند:

۱. **آزمایش انگشت:** مقدار از عسل بالای انگشت گذاشته شده، عسل خالص پراکنده و منتشر نشده؛ ولی عسل تقلبی منتشر می‌شود.

۲. **آزمایش شعله:** عسل خالص قابلیت اشتعال (شعله ور شدن) را دارد. در این آزمایش یک چوب گوگرد خشک برداشته شده و در عسل فرو برده شود، بعداً چوب گوگرد به قوطی گوگرد جهت شعله‌ور شدن روشن شود. اگر روشن شد، عسل خالص بوده و اگر روشن نشد، ممکن است تقلبی باشد و هم‌چنین ممکن است حاوی مقداری رطوبت باشد که در هنگام تقلب به آن اضافه شده است.

۳. **استفاده از سرکه:** یک قاشق غذاخوری عسل، مقداری آب و ۲ تا ۳ قطره سرکه با هم مخلوط شده، اگر این مخلوط کف کند، احتمال تقلبی بودن عسل بسیار زیاد است.

۴. **آزمایش حرارتی:** اگر عسل خالص گرم شود، سریع قهوه‌یی یا کاراملی (Caramelize) می‌شود و کف نمی‌کند؛ اما در صورت خالص نبودن ممکن عسل کاراملی نشود و با حرارت دادن حالت حباب‌دار پیدا کند.

۵. **خریداری از فروشگاه‌های معتبر:** آسان‌ترین روش تشخیص عسل طبیعی، خرید از فروشگاه‌ها و اشخاص معتبر می‌باشد که خریداران از سابقه فعالیت آن‌ها در زنبورداری و یا تهیه و فروش عسل مطلع هستند.

٦. **میزان رطوبت:** برخی افراد میزان رطوبت عسل را به‌وسیله برگرداندن شیشه عسل و سرعت بالا و پایین رفتن حباب داخل شیشه و برخی به‌وسیله میزان کشش عسل اندازه‌گیری می‌کنند.

۷. **میزان تخمر:** عسل با رطوبت بیش از ۱۷ فیصد بیش‌تر در معرض تخمر می‌باشد. بعد از شکرک زدن، فیصدی تخمر عسل افزایش می‌یابد که تخمر بیش‌تر نمایندگی از پائین بودن کیفیت عسل می‌کند.

۸. **مزه کردن:** عسل طبیعی علاوه بر شیرینی خاص، دارای مزه و طعم خاص است که فقط در عسل اصلی وجود دارد و عسل‌های مصنوعی فاقد این نوع مزه می‌باشند. لذا افراد می‌توانند با مصرف زیاد و توجه دقیق به درجه خلوص عسل، حتی نوع عسل را از نظر گیاه مورد مصرف زنبور تعیین کنند؛ زیرا هر گیاه مزه خاصی به عسل می‌دهد.

۹. **بو کردن:** عسل طبیعی دارای بو، رایحه قوی و مطبوع است. در این روش سرپوش عسل مدتی بسته شده و هنگام باز کردن سرپوش بوی آن استشمام می‌شود.

۱۰. **سرعت حل شدن در آب:** اگر عسل داخل گیلاس پر از آب ریختانده شود، چنان‌چه به‌صورت عمودی وارد گیلاس پر از آب شده و در اخیر آن جمع شود و به سرعت حل نگردد، عسل خالص است؛ ولی اگر عسل هنگام ریختن، در آب حل شود، از مطلوبیت و خالصیت کم‌تر و رطوبت بالاتری دارا است.

نتیجه‌گیری

روش‌های لابراتواری از جمله روش‌های معتبر در سراسر جهان بوده و به‌منظور اهداف خاص جهت شناسایی عسل‌های تقلبی انکشاف داده شده است. بنابراین به این نتیجه رسیدم که:

۱. پرکاربردترین روش لابراتواری در جهان روش‌های طیف‌سنجی (Spectroscopy) است، چون‌که دارای دقت بیش‌تر بوده و وقت کم‌تر نیاز دارد.

۲. روش‌های کروماتوگرافی (Chromatography) فوق‌العاده دقیق بوده؛ ولی وقت بیش‌تر نیاز دارد.

۳. روش‌های ایمیونولوژیکی (Immunoassays) و میتا بارکود DNA (DNA metabarcoding) دارای دقت بالا بوده؛ ولی بنابر محدویت‌های خاص کم‌تر استفاده می‌گردد.

۴. بهترین گزینه برای شناسایی عسل حرارت دیده روش کیمیاوی هایدروکسی میتایل فورفورال (Hydroxymethyl furfural/HMF) می‌باشد.

۵. روش میکروسکوپی (Microscopic) و زبان برقی (Electrical Tongue) از جمله روش‌های سریع، آسان و کم‌هزینه بوده؛ ولی دقت کم‌تر دارند.

٦. روش‌های سنتی از نگاه علمی دارای دقت کافی نبوده، از این روش‌ها می‌توان تا اندازه‌یی برای تفکیک خالصیت و کیفیت عسل در محلات که دست‌رسی به لابراتوار مشکل و پر هزینه است، استفاده نمود.

منابع

1. Ashtiyani,S. Shamsi, M. Hosseini, N. Ramezani,M,. Honey in Quran and medicine. Arak Medical University Journal. 2011. Pp 51-57.
2. Suarez,J,M. Tulipani,S. Romandini,S. Bertoli,E. Battino,M. Contribution of honey in nutrition and human health. Journal of Springer. 2010. Pp 3:15-23.
3. Fakhlaei,R. Selmat,J. Khatib,A. Razis,A,F. Sukor,R et al. The Toxic Impact of Honey Adulteration. Journal of Foods. 2020. Pp 1-21.
4. Johnson, R.J.; Fuggle, S.V.; Mumford, L.; Bradley, J.A.; Forsythe, J.L.; Rudge, C.J.; Kidney Advisory Group of NHS Blood and Transplant. A New UK 2006 National Kidney Allocation Scheme for deceased heart-beating donor kidneys Transplantation. 2010, 89, 387–394.
5. Soares, S.; Amaral, J.S.; Oliveira, M.B.P.; Mafra, I. A comprehensive review on the main honey authentication issues: Production and origin. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. 2017, 16, 1072–1100.
6. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO); World Health Organization (WHO). Joint FAO/WHO Food Standard Programme Codex Alimentarius Commission Twenty-Fourth Session Geneva, 2–7 July 2001. In Codex Alimentarius Commission; ALINORM 01/34A; FAO: Rome, Italy; WHO: Geneva, Switzerland. 2001.
7. Samat, S.; Kanyan Enchang, F.; Nor Hussein, F.; Wan Ismail, W.I. Four-week consumption of Malaysian honey reduces excess weight gain and improves obesity-related parameters in high fat diet induced obese rats. Evid. Based Complement. Altern. Med. 2017.
8. Azar,M. Yosofpoor,M. Azar,S. Aghajani,S. Point of view of Islam and traditional medicine and modern about Honey. Journal of Clinical Excellence. 2015. Pp 4(1); 44-56.
9. Zábrodská B, Vorlová L. Adulteration of honey and available methods for detection–a review. Acta Veterinaria Brno. 2015 May 5;83(10):85-102.
10. Guler A, Bakan A, Nisbet C, Yavuz O. Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (Saccharum officinarum L.) syrup. Food chemistry. 2007 Jan 1;105(3): 19-25.
11. Thrasyvoulou A, Tananaki C, Goras G, Karazafiris E, Dimou M, Liolios V, Kanelis D, Gounari S. Legislation of honey criteria and standards. Journal of Apicultural Research. 2018 Jan 1;57(1):88-96.
12. Hüfner S. Photoelectron spectroscopy: principles and applications. Springer Science & Business Media; 2013 Mar 9, 2-4.
13. Naila A, Flint SH, Sulaiman AZ, Ajit A, Weeds Z. Classical and novel approaches to the analysis of honey and detection of adulterants. Food Control. 2018 Aug 1; 90: 52-65.
14. Guelpa A, Marini F, du Plessis A, Slabbert R, Manley M. Verification of authenticity and fraud detection in South African honey using NIR spectroscopy. Food Control. 2017 Mar 1; 73: 88-96.

15. Ruoff K, Karoui R, Dufour E, Luginbühl W, Bosset JO, Bogdanov S, Amadò R. Authentication of the botanical origin of honey by front-face fluorescence spectroscopy. A preliminary study. Journal of agricultural and food chemistry. 2005 Mar 9; 53(5): 3-7.
16. Riswahyuli Y, Rohman A, Setyabudi FM, Raharjo S. Indonesian wild honey authenticity analysis using attenuated total reflectance-fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy combined with multivariate statistical techniques. Heliyon. 2020 Apr 1;6(4):e36-62.
17. Dyer CD. *Chemical applications of Fourier-transform Raman spectroscopy* (Doctoral dissertation, University of Southampton). 1995.
18. De Oliveira LF, Colombara R, Edwards HG. Fourier transform Raman spectroscopy of honey. Applied Spectroscopy. 2002 Mar;56(3): 06-11.
19. Mai Z, Lai B, Sun M, Shao J, Guo L. Food adulteration and traceability tests using stable carbon isotope technologies. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2019;18(8): 71-84.
20. Dranca F, Ropciuc S, Pauliuc D, Oroian M. Honey adulteration detection based on composition and differential scanning calorimetry (DSC) parameters. LWT. 2022 Oct 1;168: 113910.
21. Angerish M. Study of Chromatography Techniques and Its Application. JETIR. 2018 Sep; 5(9): 405-411.
22. Rohrer JS. High-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection for carbohydrate and glycoconjugate analyses. InCarbohydrate Analysis by Modern Liquid Phase Separation Techniques. Elsevier. 2021 Jan 1 pp. 157-207.
23. CABANero AI, Recio JL, Ruperez M. Liquid chromatography coupled to isotope ratio mass spectrometry: a new perspective on honey adulteration detection. Journal of agricultural and food chemistry. 2006 Dec 27;54(26): 19-27.
24. Bilikova K, Simuth J. New criterion for evaluation of honey: quantification of royal jelly protein apalbumin 1 in honey by ELISA. Journal of agricultural and food chemistry. 2010 Aug 11;58(15): 76-81.
25. Silva GS, Bernardoni V, Santana RM, Calaça P, Assis DS, Lima WG, Gardoni LC, Brito J. Official labeled and unlabeled Brazilian honey. Comparison between physicochemical, microbiological, and microscopic parameters. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas. 2021 Aug;50(2): 57-75.
26. Ciursa P, Oroian M. Voltammetric e-tongue for honey adulteration detection. Sensors. 2021 Jul 26;21(15):50-59.
27. Puścion-Jakubik A, Borawska MH, Socha K. Modern methods for assessing the quality of bee honey and botanical origin identification. Foods. 2020 Jul 31;9(8):10-28.