JRIFST

مقالهٔ کامل پژوهشی

www.journals.rifst.ac.ir
نشریه پژوهش و نوآوری در علوم و صنایع غذایی
سال 1398، جلد 8، شماره 3، صفحات 284-269
DOI: 10.22101/JRIFST.2019.07.08.836

بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی چند نوع عسل و مقایسهٔ اثر ضدمیکروبی آنها بر *اسینتوباکتر بومانی* و *انتروکوکوس فکالیس*

محبوبه دهقان[1]، جمشید مهرزاد[2*]

1- دانش‌آموختهٔ کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران
2- استادیار، گروه بیوشیمی، واحد نیشابور، دانشگاه آزاد اسلامی، نیشابور، ایران
* نویسندهٔ مسئول (mehrzadjam@iau-neyshabur.ac.ir)

تاریخ دریافت: 1397/10/29
تاریخ پذیرش: 1398/03/07

واژه‌های کلیدی
اسینتوباکتر بومانی
انتروکوکوس فکالیس
عسل
فیزیکوشیمیایی
ضدمیکروبی

چکیده

امروزه عوارض متعددی ناشی از مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها برای انسان ایجادشده و نیز باکتری‌ها نسبت به تعداد زیادی از آنها مقاوم شده‌اند. لذا توجه بسیاری از پژوهشگران به داروهایی با منشأ طبیعی جلب شده است. هدف از این پژوهش بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی انواع عسل؛ شامل عسل‌های گیاه کبود محصول بهار 1395 و بهار 1396، گیاه پنج‌انگشت محصول بهار 1396 و گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان محصول پاییز 1396جمع‌آوری شده از نیشابور بر باکتری‌های *اسینتوباکتر بومانی* (PTCC:1797) و *انتروکوکوس فکالیس* (PTCC:1394) بود. همچنین مقایسهٔ اثر ضدمیکروبی این عسل‌ها در غلظت‌های مختلف (10، 20، 50 و 70 درصد) بدون استفاده از آمپی‌سیلین و به‌همراه آمپی‌سیلین روی باکتری‌ها انجام شد. نتایج نشان داد تمامی عسل‌ها دارای کیفیت مناسبی بودند، هرچند عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان که نسبتاً تازه بود ازنظر 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 موردبررسی خاصیت باکتریوستاتیک داشتند و افزایش غلظت محلول عسل‌ها باعث افزایش خاصیت ضدمیکروبی آنها شد. همچنین مشخص شد با اضافه‌شدن آمپی‌سیلین به عسل‌ها مقدار تأثیر ضدمیکروبی آنها افزایش می‌یابد. ازنظر خاصیت ضدمیکروبی هم عسل پاییزهٔ گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان در مقایسه با سایر عسل‌ها بیشترین تأثیر را داشت. درنهایت نتیجه‌گیری می‌شود استفاده از عسل و به‌ویژه عسل تازهٔ گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان به‌همراه آمپی‌سیلین می‌تواند در جلوگیری از رشد باکتری‌های *اسینتوباکتر بومانی* و *انتروکوکوس فکالیس* مؤثر باشد.

مقدمه

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 نیز دارند (Terrab, Dí ez, & Heredia,2002). عسل یکی از قدیمی‌ترین داروهای سنتی است که برای درمان عفونت‌های میکروبی مورداستفاده قرار می‌گیرد (Ray & Ryan, 2004؛ قیصری و حمیدیان، 1387). این مادهٔ غذایی یکی از ره‌آوردهای مفید و ارزشمند طبیعت می‌باشد که خداوند در

قرآن و در سورهٔ نحل آن را تحت‌عنوان مادهٔ شفابخش برای انسان بیان فرموده است: «فِیهِ شِفَاءٌ للناس»، «خوردن عسل برای مردم شفاست (قرآن‌کریم، سورهٔ نحل، آیهٔ 69)». چهارپنجم وزن عسل را کربوهیدرات (مواد قندی-نشاسته‌ای) تشکیل می‌دهد و سایر ترکیبات آن عبارتند از: پروتئین‌ها، املاح معدنی، ترکیبات معطر، آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، گردهٔ گل و مقداری آب (پروانه، 1390). عسل یک مادهٔ غذایی بسیار مفید با پتانسیل بالای ضدمیکروبی و دیگر ویژگی‌های زیستی همچون ویژگی‌های ضدتوموری، ضدالتهابی، ضداکسیدانی و ضدویروسی می‌باشد. این ویژگی‌ها از نوعی عسل به نوعی دیگر تفاوت دارد که به گروهی از ترکیبات شیمیایی و خواص فیزیکی این مادهٔ غذایی مربوط می‌شود که این خود به منشأ گیاهی، منطقهٔ جغرافیایی و حشره‌شناسی عسل مرتبط می‌شود (Tong *et al.*, 2014؛ سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392a). مشخص‌شده عسل با طیف وسیعی از میکروب‌های خطرناک ازجمله هلیکوباکتر[1] و سالمونلا[2] به خوبی مبارزه می‌کند و همچنین عسل روی باکتری‌های مقاوم به آنتی‌بیوتیک، ازجمله ابرمیکروبی به نام *متیسیلین رزیستنتا استافیلوکوکوس اورئوس*[3] (MRSA) نیز مؤثر است و برخلاف بیشتر آنتی‌بیوتیک‌ها به‌نحو چشمگیری باعث پیشرفت بهبود زخم‌ها می‌شود (خدادادی و جامی، 1393). طبق گفتهٔ کوپر، عسل ممکن است به علت وجود آنزیم‌هایی که هنگام ساختن آن توسط زنبورعسل ترشح می‌شود، خاصیت میکروب‌زدایی داشته باشد، یا این خاصیت می‌تواند به علت درجهٔ اسیدی‌بودن عسل یا وجود مواد شیمیایی گرفته‌شده از شهد طبیعی گیاهان باشد (Dunford, Cooper, Molan, & White, 2000).

اسینتوباکتر بومانی[4] مهم‌ترین عضو در میان گونه‌های *اسینتوباکتر*، دربارهٔ 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 بیماران بستری‌شده در بخش مراقبت‌های ویژه هستند (Eveillard, Kempf, Belmonte, Pailhoriès, & Joly-Guillou, 2013; Tang, Apisarnthanarak, & Hsu, 2014). می‌توان انتظار داشت که زنجیرهٔ 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 عرصهٔ بالینی و مواد غذایی به خود جلب‌کرده، توانایی شگفت‌انگیز آن برای به‌دست‌آوردن و انتشار ژن‌های مقاومت به انواع آنتی‌بیوتیک‌هاست (Novovic *et al.*, 2015).

انتروکوکوس فکالیس[5]، باکتری هم‌زیست رودهٔ 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 درزمینهٔ بهداشت مواد غذایی *انتروکوکوس* است و *انتروکوکوس فکالیس* گونه‌ای از جنس *انتروکوکوس* است که در مواد غذایی از شایع‌ترین گونه‌ها می‌باشد. ازآنجاکه *انتروکوکوس‌ها* ساکن طبیعی رودهٔ انسان و حیوانات هستند شاخص مدفوعی در مواد غذایی محسوب‌شده 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). باتوجه‌به اهمیت ذکرشده *انتروکوکوس* در استاندارد ملی ایران به شمارهٔ 10082 (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1386) در جدول حد مجاز میکروبی مورداستفاده برای کنترل مواد غذایی، جزء شاخص‌های میکروبی در کنترل کیفیت سبزی ذکرشده‌اند.

باتوجه‌به اثرات ضدمیکروبی و اثرات شگفت‌آور سلامتی‌بخش عسل، در تحقیق حاضر به بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و تأثیر 4 نوع عسل مختلف (عسل گیاه کبود محصول بهار 1395 و بهار 1396، عسل گیاه پنج‌انگشت محصول بهار 1396و عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان محصول پاییز 1396) به تنهایی و همراه با آمپی‌سیلین روی *انتروکوکوس فکالیس* و *اسینتوباکتر بومانی* پرداخته شد. لازم به ذکر است آمپی‌سیلین یکی از آنتی‌بیوتیک‌های منتخب بر

[1] *Helicobacter*
[2] *Salmonella*
[3] *Meticillinresistenta Staphylococcus aureus*
[4] *Acinetobacter baumanii*
[5] *Enterococcus faecalis*

ضد این باکتری‌هاست، ولی در برخی کشورها مانند ایالات متحده همراه با سولباکتام[1] علیه *اسینتوباکتر بومانی* استفاده می‌شود (Smolyakov *et al.*, 2003). لذا در تحقیق حاضر آمپی‌سیلین مورداستفاده قرار گرفت تا مشخص شود که عسل ازنظر خاصیت ضدمیکروبی به تنهایی در مقایسه با این آنتی‌بیوتیک که اکنون به تنهایی بر ضدباکتری‌های موردنظر 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 استفادهٔ عسل همراه با آمپی‌سیلین می‌تواند مانع رشد این باکتری شود می‌توان توصیه‌نمود که این مادهٔ غذایی مفید جایگزین سولباکتام شود. همچنین ذکرشده عفونت‌های ناشی از *انتروکوکوس فکالیس* حساس را می‌توان با استفاده از آمپی‌سیلین و وانکومایسین[2] 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 1396 و بهار 1397 انجام شد، 4 نوع عسل مختلف مورداستفاده قرار گرفت. عسل‌های مورداستفاده عبارتند از عسل گیاه کبود محصول بهار 1395 و بهار 1396، عسل گیاه پنج‌انگشت محصول بهار 1396 و عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان محصول پاییز 1396. 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 خشک‌شدهٔ انجمادی از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه شدند.

محیط‌های کشت مولر هینتون آگار، نوترینت براث، نوترینت آگار، سیمون سیترات آگار، بلاد آگار و تریپتون شوگر آگار و همچنین مواد شیمیایی و دیسک آنتی‌بیوتیک از شرکت مرک (آلمان) تهیه گردید.

آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی

در ابتدا به‌منظور ارزیابی کیفیت عسل، خواص آنتی‌اکسیدانی و فیزیکوشیمیایی ذیل موردبررسی قرار گرفتند.

رطوبت

میزان رطوبت به روش قرائت میزان ضریب شکست در دمای 20 درجهٔ سانتی‌گراد روی سطح تمیز و خشک منشور دستگاه رفراکتومتر آبه[3] (مدل 2WAJ، PECGroup، ساخت انگلستان) انجام شد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

تعیین وزن مخصوص

ابتدا درصد مواد جامد محاسبه شد و براساس آن وزن مخصوص عسل محاسبه گردید. اختلاف درصد رطوبت از 100، به‌عنوان درصد مواد جامد و مقدار عدد خوانده‌شده از دستگاه رفراکتومتر برحسب واحد بریکس، معادل مواد جامد قابل‌حل درنظرگرفته شد.

به‌منظور تعیین وزن مخصوص با استفاده از رابطهٔ (1) وزن مخصوص محلول 20 درصد عسل محاسبه گردید (پروانه، 1390).

رابطهٔ (1)

وزن مخصوص = (درصد مواد جامد × 0/00386) +1

هدایت الکتریکی

برای اندازه‌گیری هدایت الکتریکی محلول‌های 20 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 (1991) استفاده شد. رابطهٔ میزان هدایت الکتریکی و میزان خاکستر در عسل در رابطهٔ (2) آورده شده است که در آن A میزان خاکستر برحسب گرم در 100 گرم عسل و C میزان هدایت الکتریکی برحسب میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر می‌باشد.

رابطهٔ (2)

$$C=0/14+1/74A$$

pH

میزان pH در دمای 20 درجهٔ سانتی‌گراد و به‌کمک دستگاه pHمتر (Jenway 3320، ساخت انگلستان) اندازه‌گیری شد

[1] Sulbactam
[2] Vancomycin
[3] Abbe

(سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

اسیدیته

با رقیق‌کردن عسل مطابق استاندارد به روش تیتراسیون انجام شد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

قندهای احیاکننده

درصد قندهای احیاکننده به روش لین‌آینون 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 احیاکردن محلول‌های فهلینگ A و B رسوب آجری‌رنگ اکسید مس ایجاد کردند و از متیلن‌بلو برای شناساگر نقطهٔ پایانی استفاده گردید. با اندازه‌گیری مقدار رسوب تشکیل‌شده مقدار قند موجود در نمونه تعیین شد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

گلوکز

با استفاده از روش یدومتری و تیتراسیون محلول نمونهٔ عسل آزمون قندهای احیاکننده، درصد گلوکز به‌دست آمد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

فروکتوز

از تفاوت مقدار قندهای احیاکنندهٔ قبل از هیدرولیز منهای مقدار گلوکز، مقدار فروکتوز به‌دست می‌آید (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

نسبت فروکتوز به گلوکز

از تقسیم درصد فروکتوز بر درصد گلوکز به‌دست آمد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

ساکارز

برای محاسبهٔ درصد ساکارز، اختلاف قندهای احیاکنندهٔ قبل و بعد از هیدرولیز در ضریب 0/95 ضرب شد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

تعیین مقدار هیدروکسی‌متیل فورفورال[1] (HMF)

از روش ارائه‌شده در استاندارد ملی عسل استفاده شد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b). پس از شفاف‌کردن نمونه‌ها توسط معرف‌های کاریز 1 و 2 و افزودن سدیم بی‌سولفیت و آب‌مقطر به‌ترتیب به محلول شاهد و نمونه، جذب نوری آنها در مقابل محلول شاهد در طول موج‌های 284 و 336 نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Unico، ساخت آلمان) خوانده شد و سپس میزان هیدروکسی‌متیل فورفورال با کم‌کردن میزان جذب در طول موج 336 نانومتر از میزان جذب در طول موج 284 نانومتر به‌دست آمد

تعیین فعالیت دیاستازی

برای‌این‌منظور محلول استاندارد نشاسته تهیه و به نمونه اضافه گردید و در حمام آب 40 درجهٔ سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس کاهش رنگ در فواصل زمانی یکسان با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 660 نانومتر اندازه‌گیری شد. برای تعیین زمان برحسب دقیقه (t_x) برای رسیدن به جذب 0/235، نمودار جذب برحسب زمان رسم شد و با استفاده از معادلهٔ خط، عدد دیاستاز از تقسیم 300 بر t_x محاسبه شد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل به‌صورت درصد به‌دام‌انداختن رادیکال آزاد 2 و 2-دی‌فنیل 1-پیکریل‌هیدرازیل[2] (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری محاسبه شد و جذب نمونه در طول موج 517 نانومتر در برابر شاهد اندازه‌گیری شد (Ferreira, Aires, Barreira, & Estevinho, 2009).

ترکیبات فنولی

برای اندازه‌گیری ترکیبات فنولی میزان جذب محلول نمونه در طول موج 725 نانومتر به‌وسیلهٔ اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. از محلول اسیدگالیک به‌عنوان محلول استاندارد استفاده شد و میزان کل ترکیبات فنولی عسل تعیین گردید (Zainoldin & Baba, 2009).

پرولین

در روش رنگ‌سنجی با استفاده از محلول پرولین به‌عنوان استاندارد جذب نمونه‌ها در مقابل آب‌مقطر در طول موج 520 نانومتر خوانده شد. جهت ایجاد رنگ از محلول فرمیک‌اسید و محلول نین‌هیدرین[3] استفاده شد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392a).

[1] Hydroxymethyl Furfural

[2] 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

[3] Ninhydrin

بررسی فعالیت ضدمیکروبی عسل

برای انجام آزمون‌های میکروبی ابتدا غلظت‌های 10، 20، 50 و 70 درصد از نمونه‌های عسل با حل‌کردن در محیط کشت نوترینت براث تهیه شد. سپس 0/1 میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری با غلظت 0/5 مک‌فارلند (حدود $1/5\times10^8$ واحد تشکیل کلنی بر میلی‌لیتر) به لوله‌های حاوی غلظت‌های مختلف عسل اضافه شد و به مدت یک شب در دمای 37 درجهٔ سانتی‌گراد، گرم‌خانه‌گذاری شد. از لوله‌هایی که کدورت در آنها دیده نشد، 1 میلی‌لیتر برداشته و به 9 میلی‌لیتر محیط کشت بدون عسل اضافه گردید و به مدت 24، 48 و 72 ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. سپس از محتویات این لوله‌ها روی محیط کشت آگار کشت تهیه شد و به مدت 24 ساعت گرم‌خانه‌گذاری شد. درصورت رشد، عسل خاصیت باکتریواستاتیک[1] داشته و درغیراین‌صورت عسل خاصیت باکتریوسیدال[2] دارد (Almasaudi *et al.*, 2017). لازم‌به‌ذکراست جهت اطمینان و تأیید روش کدورت‌سنجی، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف عسل بر باکتری‌ها به روش جذب‌سنجی به‌وسیلهٔ الایزاریدر[3] (مدل BP 800، ستخن فنلاند) نیز انجام شد، به‌این‌صورت‌که به مدت 24 ساعت مخلوط غلظت‌های مختلف عسل و باکتری‌ها در پلیت 96 تایی با دمای 37 درجهٔ سانتی‌گراد گرم‌خانه‌گذاری شد و سپس جذب توسط الایزاریدر در طول موج 630 نانومتر خوانده شد.

بررسی تأثیر ترکیب عسل و آنتی‌بیوتیک بر باکتری‌ها

به‌منظور تشخیص اینکه باکتری‌های موردنظر نسبت به چه آنتی‌بیوتیک‌هایی حساس و نسبت به کدام آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند تست آنتی‌بیوگرام برای آموکسی‌سیلین[4]، جنتامایسین[5]، آمپی‌سیلین[6]، اریترومایسین[7] و تتراسایکلین[8] به روش دیسک دیفیوژن[9] انجام شد. آشکار شد که *انتروکوکوس فکالیس* به آموکسی‌سیلین مقاوم بود، به جنتامایسین و آمپی‌سیلین تا حدودی مقاوم و نسبت به اریترومایسین و تتراسایکلین حساسیت زیاد نشان داد.

[1] Bacteriostatic
[2] Bacteriocidal
[3] Elisa Reader
[4] Amoxicillin
[5] Gentamicin
[6] Ampicillin
[7] Erythromycin
[8] Tetracycline
[9] Disk Diffusion

اسینتوباکتر 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 به‌همراه رقت بهینه‌ای از آمپی‌سیلین، یعنی 64 میلی‌گرم بر لیتر برای *اسینتوباکتر بومانی* (Karumathil, Gaffney, Surendran Nair, Kollanoor-Johny, & Venkitanarayanan, 2018) و 4 میلی‌گرم بر لیتر برای *انتروکوکوس فکالیس* (Tong *et al.*, 2014)، در چاهک‌های پلیت 96 تایی ریخته شد و سپس به آن مقدار معینی از باکتری‌ها اضافه شد. نتایج توسط دستگاه الایزاریدر در طول موج 630 نانومتر قرائت گردید.

تجزیه‌وتحلیل آماری

کل آزمایش‌ها در 3 تکرار انجام شدند. برای تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS (نسخهٔ 20) و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون دانکن[10] در سطح 5 درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

باتوجه‌به بررسی خواص متعدد فیزیکوشیمیایی، آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی در ذیل به ارائهٔ نتایج و بحث هر مورد به‌طور جداگانه پرداخته می‌شود.

نتایج و بحث آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی

روش تولید، شرایط فراوری، شرایط آب‌وهوایی در دورهٔ تولید عسل، زمان برداشت، مدت زمان نگهداری، محل نگهداری و همچنین منبع شهد، تأثیر مهمی بر کیفیت، ترکیب و ویژگی‌های بیوشیمیایی عسل دارد و به‌همین‌دلایل عسل‌ها می‌توانند خصوصیات فیزیکوشیمیایی و درنتیجه کیفیت متفاوتی داشته باشند (Iglesias *et al.*, 2012; Moreti, 2006) در تحقیق حاضر نیز باتوجه‌به نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی موردبررسی که در جدول (1) آورده شده است برخی تفاوت‌ها در کیفیت عسل‌ها مشاهده شد که در بعضی موارد معنی‌دار بود.

[10] Duncan

جدول 1- نتایج آزمون‌های فیزیکوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل موردبررسی

ویژگی	گل کبود 1395	گل کبود 1396	گیاه پنج‌انگشت	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	استاندارد
رطوبت (درصد)	14/75^{b}±0/00	15/35^{a}±0/00	15/14^{a}±0/00	14/59^{b}±0/04	حداکثر 20
وزن مخصوص (گرم بر میلی‌لیتر)	1/33^{c}±0/00	1/33^{b}±0/00	1/32^{bc}±0/00	1/33^{a}±0/00	-
هدایت الکتریکی (میلی‌زیمنس بر سانتی‌متر)	0/15^{d}±0/01	0/16^{c}±0/11	0/17^{b}±0/00	0/46^{a}±0/31	حداکثر 0/80
خاکستر (درصد)	0/00^{c}±0/00	0/01^{c}±0/00	0/06^{b}±0/01	0/18^{a}±0/00	حداکثر 0/60
pH	4/34^{d}±0/01	4/42^{b}±0/02	5/27^{a}±0/01	4/37^{c}±0/10	حداقل 3/50
اسیدیتهٔ آزاد (میلی‌اکی‌والان گرم بر کیلوگرم)	15/34^{c}±0/51	17/27^{b}±0/50	17/67^{b}±0/05	19/00^{a}±0/21	حداکثر 40
HMF (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	13/80^{b}±0/15	11/189^{d}±0/11	12/57^{c}±0/31	17/98^{a}±0/23	حداکثر 40
قندهای احیاکننده (درصد)	77/85^{b}±0/11	74/85^{d}±0/90	75/15^{c}±0/47	83/25^{a}±0/23	حداقل 65
ساکارز (درصد)	1/45^{c}±0/21	2/15^{b}±0/33	4/88^{a}±0/37	1/38^{c}±0/25	حداکثر 5
فروکتوز (درصد)	46/38^{c}±0/47	46/83^{b}±0/30	38/28^{d}±0/31	48/83^{a}±0/99	-
گلوکز (درصد)	31/55^{c}±0/72	27/95^{d}±0/90	36/95^{a}±1/04	35/15^{b}±1/56	-
نسبت فروکتوز به گلوکز	1/47^{b}±0/10	1/64^{a}±0/05	1/02^{d}±0/04	1/38^{c}±0/02	حداقل 0/90
دیاستاز (DN)	5/00^{d}±0/31	19/50^{a}±0/22	8/56^{c}±0/06	12/20^{b}±0/30	حداقل 3
آنتی‌اکسیدان (درصد)	14/23^{b}±0/07	11/76^{c}±0/01	9/76^{d}±0/03	16/78^{a}±0/05	-
ترکیبات فنلی (میلی‌گرم اسیدگالیک بر 100 گرم)	21/35^{b}±0/01	20/25^{c}±0/31	17/71^{d}±0/11	23/18^{a}±0/18	-
پرولین (میلی‌گرم بر کیلوگرم)	267/81^{c}±0/1	261/23^{d}±0/11	345/13^{b}±0/03	528/75^{a}±0/4	حداقل 180

DN: عدد دیاستازی (Diastasis Number)

نتایج به‌صورت مقادیر میانگین انحراف±استاندارد بیان شده‌اند.

حروف لاتین متفاوت در هر ردیف نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار حداقل در سطح (P<0/05) است، به‌ترتیب a بیشترین و d کمترین مقدار را در هر ویژگی نشان می‌دهد.

رطوبت

رطوبت بالای عسل نشان‌دهندهٔ برداشت زودهنگام یا به‌عبارتی نارس‌بودن عسل و یا برداشت تحت‌شرایط رطوبت بالاست (Ajlouni & Sujirapinyokul, 2010; Bertoncelj, 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 مزهٔ ترش و کاهش کیفیت در عسل می‌شود (Viuda-Martos *et al.*, 2010). باتوجه‌به نتایج ارائه‌شده در جدول (1) و درنظرگرفتن استاندارد ملی ایران (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b)، که میزان رطوبت حداکثر 20 درصد است، رطوبت تمامی نمونه‌ها در محدودهٔ استاندارد قرار داشت. بنابراین عسل‌های موردبررسی رطوبت اضافی که باعث تخمیر و فساد آنها شود و درنتیجه کیفیت و میزان خاصیت ضدمیکروبی عسل‌ها را پایین بیاورد را نداشتند. بیشترین رطوبت مربوط به عسل بهارهٔ گل کبود سال 1396 بود (P≤0/05). باتوجه‌به 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 (1) ارائه‌شده مؤید رابطهٔ بین وزن مخصوص و رطوبت است، یعنی با کاهش رطوبت، وزن مخصوص عسل افزایش می‌یابد. باتوجه‌به مطلوب‌بودن رطوبت و لذا وضعیت مطلوب وزن مخصوص عسل‌ها می‌توان گفت عسل‌های موردمطالعهٔ این تحقیق دارای کیفیت خوب و طبیعی بودند. وزن مخصوص مطلوب عسل می‌تواند مبین وضعیت مناسب مقادیر مواد مختلف آن ازجمله آمینواسید پرولین، آنزیم دیاستاز، ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌ها که دارای خاصیت ضدمیکروبی‌اند، باشد. از میان عسل‌های

موردبررسی بیشترین وزن مخصوص را عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان داشت، لذا می‌توان گفت این عامل توانسته در خاصیت ضدمیکروبی آن تأثیر داشته باشد که نتایج تحقیق حاضر بیانگر این موضوع بود ($P\leq0/05$). به‌طورکلی هرچه کیفیت عسل بهتر باشد خاصیت ضدمیکروبی آن بیشتر خواهد بود (بیک‌نژاد، جلیلیان و چایچی، 1392).

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 تغییرپذیربوده و در تمایز عسل‌های با منشأ گل‌های متفاوت مهم می‌باشد (Juszczak, Socha, Rożnowski, Fortuna, & Nalepka, 2009; Terrab *et al.*, 2002). باتوجه‌به جدول (1) تمامی نتایج در محدودهٔ استاندارد بود (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b). بیشترین مقدار هدایت الکتریکی مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان به‌دست آمد که دارای بیشترین اسیدیتهٔ آزاد نیز بود ($P\leq0/05$).

محتوای خاکستر

مقدار خاکستر عسل عمدتاً به نوع گیاهی که زنبور از آن استفاده می‌کند، بستگی دارد؛ ولی شیوهٔ پرورش زنبورعسل و روش عسل‌گیری توسط زنبوردار نیز در آن مؤثر است. رمزی، کاشانی‌نژاد، صادقی‌ماهونک و رضوی، (1393) و قیصری و حمیدیان، (1387) 6 مورد خاکستر عسل را بالاتر از حد استاندارد گزارش کرده‌اند و یکی از علل آن را عدم تصفیهٔ صحیح عسل و ناخالصی‌های احتمالی موم باقی‌مانده حین عسل‌گیری بیان کردند و خاطرنشان کردند که البته تنها به این علت نمی‌توان یقین به تقلبی‌بودن عسل کرد.

میزان خاکستر به‌طور طبیعی در عسل پایین و مطابق استاندارد ایران حداکثر 0/6 گرم درصد می‌باشد. بنابراین باتوجه‌به نتایج ارائه‌شده در جدول (1) نتیجه می‌شود تمامی عسل‌های موردآزمون بدون ناخالصی بوده‌اند و به‌خوبی تصفیه شده‌اند و در محدودهٔ استاندارد قرار داشته‌اند. افزایش محتوای خاکستر در نمونه‌های عسل همراه با افزایش هدایت الکتریکی می‌باشد (رمزی و همکاران، 1393). همان‌طورکه در نتایج مشاهده می‌شود بیشترین میزان خاکستر و هدایت الکتریکی مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بوده است ($P\leq0/05$) که با نتایج بررسی‌های pH و هدایت الکتریکی مطابقت دارد. وجود چنین وابستگی بسیار نزدیک بین هدایت 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 ضدمیکروبی عسل را می‌توان در کنار عواملی مانند ترکیبات ضدمیکروبی به pH اسیدی عسل نیز نسبت داد (بیک‌نژاد و همکاران، 1392). pH پایین عسل می‌تواند مربوط به استفاده از اسید جهت هیدرولیز ساکارز باشد. البته مقدار پایین‌تر از حد استاندارد در عسل‌های طبیعی نیز می‌تواند به‌دلیل برداشت زودتر از موعد عسل از کندو باشد که در این موارد به علت بالاتربودن میزان رطوبت ممکن است عسل دچار تخمیر اسیدی گشته و بر میزان اسیدیتهٔ آن افزوده و درنهایت با نزول pH همراه است (Ajlouni & Sujirapinyokul, 2010). باتوجه‌به نتایج نشان‌داده‌شده در جدول (1) مقدار pH در تمام نمونه‌ها در محدودهٔ طبیعی و بالاتر از حداقل استاندارد 3/5 قرار داشت (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1393). رمزی و همکاران (1393) در مطالعه‌ای که درمورد مقایسهٔ خواص فیزیکوشیمیایی عسل‌های طبیعی با عسل‌های شکری و تقلبی انجام دادند میزان pH را با میانگین 3/57 به‌دست آوردند و آن را دلیلی بر طبیعی‌بودن عسل بیان داشتند.

اسیدیتهٔ آزاد

اسیدیتهٔ 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، 1396). تخمیر عسل باعث افزایش اسیدیته و طبعاً کاهش pH می‌شود. در استاندارد جهانی pH عسل در محدودهٔ 3/2 تا 4/5 (میانگین 3/39) و اسیدیته در طرح اروپایی حداکثر تا 40 میلی‌اکی‌والان و در طرح کدکس[1] (Davies, 1970) حداکثر تا 50 میلی‌اکی‌والان می‌باشد. براین‌اساس و باتوجه‌به نتایج پژوهش حاضر (جدول 1)، pH و اسیدیتهٔ نمونه‌های موردآزمون مطابق با استاندارد ملی کشور (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b) و کدکس بود. این مقادیر قابل‌قبول اسیدیته گویای فقدان تخمیر نامطلوب در نمونه‌ها بوده است (Silva *et al.*, 2009).

[1] Codex

HMF

این ترکیب طی فرایند حرارتی در اثر خروج مولکول آب از اسید هگزوزها مثل فروکتوز و گلوکز در شرایط کاتالیزه‌شده حاصل می‌گردد (Terrab *et al.*, 2002). HMF در عسل تازه، یا وجود ندارد و یا در مقادیر بسیارناچیز وجود دارد، درحالی‌که در عسل‌های حرارت‌دیده، نگهداری‌شده در شرایط نامساعد دمایی یا مخلوط‌شده با شربت اینورت (تقلبی‌شدن) مقادیر زیادی از آن وجود دارد (رمزی و همکاران، 1393). باتوجه‌به اطلاعات گرفته‌شده از زنبوردار، عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان در معرض نور خورشید بوده اما کلاً هیچ‌گونه حرارت‌دهی و اضافه‌کردن قند مصنوعی در هیچ‌کدام یک از عسل‌ها انجام نشده است. طبق نتایج موجود در جدول (1) بیشترین میزان هیدروکسی‌متیل فورفورال مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بود که در شرایط کمی نامناسب نگهداری شده بوده است ($P\leq0/05$). بااین‌حال تمامی مقادیر به‌دست‌آمده در سطح استاندارد (کمتر از 40 میلی‌گرم در کیلوگرم) می‌باشند و از کیفیت آنها اصلاً کاسته نشده است (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b؛ لک‌زاده، قیصری و ماهیانه، 1391) در مطالعه‌ای که روی عسل‌های مختلف استان اصفهان انجام دادند بیشترین میزان HMF را 31/29 میلی‌گرم بر کیلوگرم گزارش کرده‌اند، بااین‌حال ذکر کرده‌اند که در مقایسه با میزان استاندارد، مناسب می‌باشند و از آنها می‌توان استفاده نمود. لذا می‌توان گفت شرایط نگهداری عسل‌های موردبررسی در طرح حاضر که بیشترین مقدار HMF در بین آنها حدود 18میلی‌گرم 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 به‌دلیل قند آن است (White & Doner, 1980). اندازه‌گیری میزان قندهای احیاکننده در تشخیص عسل طبیعی از عسلک بسیار مفید است (قیصری و حمیدیان، 1387). نتایج آورده‌شده در جدول (1) گویای این هستند که مقدار قندهای احیاکننده در تمام نمونه‌های عسل بالاتر از مقدار ذکرشده در استاندارد ملی عسل (حداقل 65) بود (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b). که این نشان‌دهندهٔ استانداردبودن این مقادیر است. اسمولاریته[1] بالای عسل مربوط به مقادیر بالای قند آن می‌باشد. اسمولاریتهٔ بالا محیط نامناسبی را برای باکتری‌ها ایجادکرده و درنتیجه از رشد آنها جلوگیری به‌عمل می‌آورد. درنتیجه ازآنجایی‌که بیشترین میزان قندها را عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان دارا بود، این ویژگی می‌تواند به خاصیت ضدمیکروبی آن کمک زیادی کند. به‌طورکلی محتوای ساکارز بالاتر را می‌توان به تغذیه‌دهی بیش‌ازحد زنبورهای عسل با شربت ساکارز، تقلبی‌شدن و یا برداشت زودتر از موعد عسل که در آن ساکارز هنوز به‌طور کامل به گلوکز و فروکتوز تبدیل نشده است، نسبت داد (رمزی و همکاران، 1393). باتوجه‌به نتایج جدول (1)، ازآنجایی‌که تمامی مقادیر به‌دست‌آمده برای ساکارز در نمونه‌های عسل موردبررسی در محدودهٔ 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 به‌دست‌آمده نسبت فروکتوز به گلوکز در تمامی نمونه‌ها بالاتر از حداقل میزان ذکرشده در استاندارد ملی عسل (حداقل 0/9) می‌باشد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b).

دیاستاز

دیاستاز یک آنزیم طبیعی در عسل می‌باشد (Gomes, Dias, Moreira, Rodrigues, & Estevinho, 2010). فعالیت دیاستازی نشان‌دهندهٔ طبیعی‌بودن و تازگی عسل است (Cantarelli, Pellerano, Marchevsky, & Camiña, 2008). این آنزیم حساس به حرارت‌دهی و شرایط نگهداری می‌باشد (Silva *et al.*, 2009). باتوجه‌به نتایج موجود در جدول (1) بیشترین میزان فعالیت دیاستازی مربوط به عسل گل کبود 1396 و بعد از آن مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بود که در شرایط نگهداری‌اش کمی نامناسب بوده است و کمترین میزان فعالیت دیاستازی مربوط به قدیمی‌ترین عسل بوده است ($P\leq0/05$). بااین‌حال تمامی عسل‌ها بیشتر از مقدار حداقلی (3 DN) دارای دیاستاز می‌باشد. رمزی و همکاران (1393) در پژوهش خود نشان دادند که عسل تقلبی فاقد فعالیت دیاستازی می‌باشد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل‌های طبیعی در اثر حضور بسیاری از مواد مختلف مانند آنزیم‌ها، اسیدهای آلی، ترکیبات فنولی، فلاونوئیدها، کاروتنوئیدها، آمینواسیدها و آسکوربیک‌اسید است (Hussein, Yusoff, Makpol, &

[1] Osmolarity

Yusof, 2011). لذا تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین انواع عسل به علت تفاوت مقدار آنتی‌اکسیدان‌های عسل به‌خصوص میزان ترکیبات فنولی می‌باشد و به شدت بستگی به تعداد گروه‌های هیدروکسیل متصل به حلقهٔ بنزن این ترکیبات داشته که دهندهٔ الکترون هستند (Socha *et al.*, 2011). در مطالعهٔ حاضر و باتوجه‌به نتایج موجود در جدول (1)، بیشترین میزان فعالیت مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان بود ($P\leq0/05$).

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 تحت‌تأثیر 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 ازجمله 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). باتوجه‌به نتایج جدول (1) 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 ($P\leq0/05$). Socha و همکاران (2011) با بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنولی 8 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 (2005) با بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی 5 نمونه عسل از ترکیه به این نتیجه رسیدند که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های عسل موردمطالعه و میزان ترکیبات فنولی آنها ارتباط قوی وجود دارد. در مطالعه‌ای نیز روی 5 نمونه عسل با منشأ گیاهی مختلف در کشور تونس میزان ترکیبات فنولی در محدودهٔ 119/49 - 32/7 میلی‌گرم اسیدگالیک بر 100 گرم به‌دست‌آمده که از محدودهٔ مقادیر به‌دست‌آمده در طرح کنونی بیشتر است (17 تا 23 میلی‌گرم اسیدگالیک بر 100 گرم) و مبین تفاوت گیاهان و شرایط آب‌وهوایی دو منطقهٔ موردمطالعه است، ضمن اینکه عسل نعناع 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 ضدمیکروبی عسل تأثیر دارد. چنانچه میزان آن از حد مشخصی کمتر گردد نشانهٔ کیفیت نامناسب عسل می‌باشد (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392a). باتوجه‌به نتایج آورده‌شده در جدول (1) بیشترین میزان پرولین مربوط به عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان به‌دست آمد ($P\leq0/05$) که این نتیجه می‌تواند یکی از عوامل توجیه‌کنندهٔ خاصیت ضدمیکروبی بیشتر این نوع عسل از سایر عسل‌ها باشد. البته میزان پرولین تمامی نمونه‌های عسل موردبررسی بیشتر از میزان حداقل ذکرشده در استاندارد ملی عسل (سازمان‌ملی‌استانداردایران [ISIRI]، 1392b). بود (حداقل 180 میلی‌گرم بر کیلوگرم) و لذا کیفیت مناسبی داشتند.

نتایج و بحث آزمون‌های ضدمیکروبی

تأثیر عسل بر رشد باکتری‌ها

نتایج حاصل از رشد باکتری‌های 24 ساعته روی محیط کشت آگار در روش کدورت‌سنجی که در این قسمت به‌صورت جدول نشان‌داده‌نشده آشکار نمود عسل‌های موردبررسی خاصیت باکتریوستاتیک[1] 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 *اسینتوباکتر بومانی* (کنترل) 0/108 و مقدار کنترل جذب *انتروکوکوس فکالیس* 0/061 به‌دست آمد. مقدار جذب (رشد) باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف انواع عسل‌های موردبررسی حاصل از جذب‌سنجی توسط الایزاریدر در جدول (2) آورده شده است که نتایج کدورت‌سنجی را تأیید می‌کنند. هرچه غلظت عسل موجود در محیط کشت بیشتر بود خاصیت ضدمیکروبی آن نیز بیشتر بود.

[1] Bacteriostatic

جدول 2- مقدار جذب (رشد) باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف انواع عسل‌های موردبررسی

غلظت عسل (درصد)	*اسینتوباکتر بومانی*				*انتروکوکوس فکالیس*			
	گل کبود 1395	گل کبود 1396	گیاه پنج‌انگشت	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	گل کبود 1395	گل کبود 1396	گیاه پنج‌انگشت	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان
10	0/06[b]	0/06[b]	0/06[b]	0/05[b]	0/05[b]	0/04[b]	0/04[b]	0/04[b]
20	0/06[c]	0/04[c]	0/05[c]	0/04[c]	0/04[c]	0/03[c]	0/04[c]	0/03[c]
50	0/04[d]	0/03[d]	0/03[d]	0/02[d]	0/04[d]	0/02[d]	0/03[d]	0/02[d]
70	0/04[d]	0/02[e]	0/03[d]	0/02[e]	0/03[e]	0/02[d]	0/03[d]	0/02[e]

نتایج به‌صورت مقادیرمیانگین± نحراف استاندارد بیان شده‌اند.

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

تأثیر ترکیب عسل و آنتی‌بیوتیک بر رشد باکتری‌ها

نتایج حاصل از جذب پرتو در الایزاریدر توسط چاهک‌های حاوی باکتری‌های موردبررسی در حضور غلظت‌های مختلف عسل و آمپی‌سیلین در جدول (3) آورده شده است. همان‌گونه‌که مشاهده می‌شود کمترین رشد (جذب) و درنتیجه بیشترین تأثیر مهار رشد بر هر دو باکتری مربوط به ترکیب عسل گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان و آمپی‌سیلین بود. باتوجه‌به اینکه مقدار جذب توسط چاهک حاوی فقط محیط کشت و *اسینتوباکتر بومانی* (کنترل) 0/108 و مقدار جذب توسط چاهک حاوی محیط کشت و *اسینتوباکتر بومانی* به اضافه آمپی‌سیلین، 0/103 به‌دست آمد، مشخص می‌شود که این آنتی‌بیوتیک در جلوگیری از رشد *اسینتوباکتر بومانی* مقدار کمی تأثیر داشته است. اما نظر به نتایج موجود در جدول (3) آشکار می‌گردد که عسل توانسته به شدت مانع رشد *اسینتوباکتر بومانی* در حضور آنتی‌بیوتیک شود. در واقع استفادهٔ همزمان عسل و آمپی‌سیلین تأثیر بیشتری بر جلوگیری از رشد این باکتری داشته است. همچنین باتوجه‌به اینکه مقدار جذب محیط کشت و *انتروکوکوس فکالیس* (کنترل) 0/061 و مقدار جذب توسط چاهک حاوی محیط کشت و *انتروکوکوس فکالیس* به اضافه آمپی‌سیلین 0/041 بود، مشخص می‌شود که این آنتی‌بیوتیک در جلوگیری از رشد این باکتری تأثیر خوبی داشته است و نظر به نتایج موجود در جدول (3) 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 درصورت عدم دسترسی به آنتی‌بیوتیک‌های معمول برای درمان عفونت‌های ناشی از باکتری‌های موردتحقیق این طرح از آمپی‌سیلین به‌همراه عسل برای به‌دست‌آوردن نتیجهٔ مطلوب استفاده کرد.

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

جدول 3- مقدار جذب (رشد) باکتری‌ها در غلظت‌های مختلف انواع عسل‌های موردبررسی به اضافهٔ یک غلظت بهینه از آمپی‌سیلین

غلظت عسل (درصد)	مقدار جذب (رشد) *اسینتوباکتر بومانی*				مقدار جذب (رشد) *انتروکوکوس فکالیس*			
	گل کبود 1395	گل کبود 1396	گیاه پنج‌انگشت	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان	گل کبود 1395	گل کبود 1396	گیاه پنج‌انگشت	گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان
10	0/06[c]	0/04[c]	0/05[c]	0/02[c]	0/04[c]	0/03[c]	0/03[c]	0/02[c]
20	0/04[d]	0/03[d]	0/03[d]	0/02[c]	0/04[c]	0/02[d]	0/02[d]	0/02[c]
50	0/03[e]	0/02[e]	0/02[e]	0/02[d]	0/03[d]	0/02[d]	0/02[de]	0/02[d]
70	0/03[e]	0/02[e]	0/02[e]	0/01[e]	0/02[e]	0/01[e]	0/02[e]	0/01[e]

نتایج به‌صورت مقادیرمیانگین± نحراف استاندارد بیان شده‌اند.

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

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

همان‌گونه‌که در جدول‌های (1) تا (3) 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 باوجوداین 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 بهینهٔ آمپی‌سیلین تشدید شد و بیشترین اثر مهارکنندگی رشد را نشان داد. درمورد تمام عسل‌ها هم به‌طورکلی 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 درمورد اثر هم‌افزایی آمپی‌سیلین و عسل روی *استافیلوکوکوس اورئوس* انجام‌شده مطابقت دارد (Ng, Lye, Chan, Lau, & Ee, 2017). در تحقیقی مشخص‌شده 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 به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد. اثر ضدمیکروبی احتمالاً مربوط به وجود مقادیر مختلف ترکیبات موجود در گیاه موردتغذیهٔ زنبورعسل است که به عسل راه‌یافته 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, Niemira, & Beuchat, 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 درنهایت عسل‌ها و اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی آنها، تأثیر داشته است.

نتیجه‌گیری

باتوجه‌به نتایج مطالعهٔ حاضر مشخص شد که عسل‌های مختلف موردبررسی 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 پاییزهٔ تازه تهیه‌شدهٔ گیاهان پنبه و آفتاب‌گردان مستقلاً یا همراه آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین بر ضدباکتری‌های *انتروکوکوس فکالیس* و *اسینتوباکتر بومانی* استفاده نمود.

منابع

بیک‌نژاد، د.، جلیلیان، ح. و چایچی، م. (1392). بررسی خواص فیزیکوشیمیایی نمونه های عسل استان گلستان. *نوآوری در علوم و فناوری غذایی*، 6(2)، 65-71.

پروانه، و. (1390). کنترل کیفی و آزمایش های شیمیایی مواد غذایی (چاپ ششم): انتشارات دانشگاه تهران.

خدادادی، ج. و جامی، م. م. (1393). عسل درمانی: شگفتی های قرآن کریم (چاپ اول): نشر ندای سینا.

رمزی، م.، کاشانی‌نژاد، م.، صادقی‌ماهونک، ع. و رضوی؛ س. (1393). مقایسه ویژگی های فیزیکوشیمیایی و رفتار رئولوژیکی عسل های طبیعی با عسل های شکری و تقلبی. *نشریه پژوهش‌های علوم و صنایع غذایی ایران*، 11(4)، 392-407.
doi:https://doi.org/10.22067/ifstrj.v1394i11.28083

سازمان‌ملی‌استانداردایران. (1386). سبزیجات تازه بسته بندی شده برای آماده سازی-مشخصات و روش های آزمایش. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ 10082، چاپ اول). برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=9448

سازمان‌ملی‌استانداردایران. (1392a). عسل- تعیین مقدار پرولین. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ 11145، چاپ اول). برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=1417

سازمان‌ملی‌استانداردایران. (1392b). عسل-ویژگی ها و روش های آزمون (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ 92، تجدیدنظر هفتم). برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=36135

سازمان‌ملی‌استانداردایران. (1393). عسل-ویژگی ها و روش های آزمون. (استاندارد ملی ایران، شمارهٔ 92، اصلاحیهٔ شمارهٔ 1). برگرفته از http://standard.isiri.gov.ir/StandardView.aspx?Id=44261

قرآن‌کریم. سورهٔ نحل، آیهٔ 69.

قیصری، ح. و حمیدیان‌شیرازی، الف. (1387). مقایسه و ارزیابی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و تقلبات عسل های منطقه شیراز تولید شده در فصول مختلف. *پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران*، 4(2)، 57-69. doi:https://doi.org/10.22067/ifstrj.v4i2.2083

کامکار، ا. و خدابخشیان، س. (1396). تعیین میزان ترکیبات فنولی، فعالیتهای آنتی رادیکالی و آنتی اکسیدانی عسل سبلان. *مجله تحقیقات دامپزشکی*، 72(1)، 53-61. doi:https://doi.org/10.22059/jvr.2017.61290

لک‌زاده، ل.، قیصری، ح. و ماهیانه، ع. (1391). مقایسه ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و میکروبی عسل‌های با منشاء گیاهی مختلف در استان اصفهان. *تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک*، 26(3)، 23-30. doi:https://doi.org/10.22092/vj.2013.101020

Abbasi, F., Samadi, F., Jafari, S. M., Ramezanpour, 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

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 Analysis, 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 difeerent seasons. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 4*(2), 57-69. doi:https://doi.org/10.22067/ifstrj.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 merhods. (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 herbhoneys. *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., & Khodabakhshiyan, 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., & Jovcic, 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/ifstrj.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., Riesenberg, 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

Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Gałkowska, D., Fortuna, T., & Witczak, 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

Terrab, A., Dı́ ez, M. J., & Heredia, F. J. ℓ2002). 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

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 . doi:https://doi.org/doi.org/10.5281/zenodo.1078639

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

Mahbubeh Dehghan[1], 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 (mehrzadjam@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 baumanii* (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 baumanii and Enterococcus faecalis* bacteria.

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