بیست و ششمین کنفرانس اپتیک و فوتونیک
ایران و دوازدهمین کنفرانس مهندسی و فناوری
فوتونیک ایران، دانشگاه خوارزمی،
تهران، ایران. بهمن ۱۳۹۸

اندازه‌گیری میزان هیدروکسی متیل فورفورال(HMF) به منظور تشخیص تازگی عسل به روش تحلیل کمی طیف فلورسانس القائی لیزری

علیرضا مشهدی، علی بوالی*، محسن هاشمی، فرزاد مختاری خیرآبادی
دانشکده مهندسی انرژی و فیزیک، دانشگاه صنعتی امیرکبیر،تهران

*نویسنده مسئول: alibavali@aut.ac.ir

چکیده–در این تحقیق، تأثیر افزایش هیدروکسی متیل فورفورال (Hydroxymethylfurfural -HMF) با گذشت زمان در عسل‌های تک‌گل تازه با منشأ گیاهی مختلف بر طیف فلورسانس القایی لیزری (LIF) عسل بررسی شده است. در روش پیشنهادی، فاکتوری کمّی برای تمایز طیف‌های فلورسانس القایی لیزری دو نمونه عسل تک‌گل تازه و یک‌ساله از یک منشأ گیاهی تعریف شده است که تعیین میزان دقیق غلظت هیدروکسی متیل فورفورال را در عسل‌های تک‌گل امکان‌پذیر می‌کند. نتایج تجربی نشان می‌دهد که با این رویکردِ سریع، دقیق، غیر مخرب و کم‌هزینه می‌توان عسل‌های تک‌گل تازه با منشأ گیاهی مختلف را از نمونه یک‌ساله آن تمییز داد.

کلید واژه- عسل تک‌گل، تازگی عسلی، فلورسانس القایی لیزری، هیدروکسی متیل فورفورال.

Measurement of hydroxymethyl furfural (HMF) by quantitative analysis of laser induced fluorescence spectra to detect freshness of honey

Alireza Mashhadi, Ali Bavali *, Mohsen Hashemi, Farzad Mokhtari Kheyrabadi

Department of Electrical Engineering and Physics, Amirkabir University of Technology (AUT), Tehran

Abstract-In this research, **t**he effect of increasing the amount of Hydroxymethylfurfural (HMF) over time in fresh unifloral honey on the laser induced fluorescence (LIF) spectra has been investigated. In the proposed method a quantitative factor is introduced to discriminate LIF spectra of fresh and one-year-old unifloral honey which accurately measures the concentration of hydroxymethyl furfural content. The experimental results reveal that with this fast, accurate, non-destructive and low-cost approach we can distinguish fresh unifloral honeys of different botanical origin from their one-year sample.

Keywords: Unifloral honey, Freshness of Honey, laser induced fluorescence, HMF.

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-19]

این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

۱-مقدّمه

عسل ماده‌ای است طبیعی که توسط زنبورعسل از شهد گل‌ها، ترشح بخش‌های زنده‌ی گیاهان و یا از مواد دفعی حشره‌های مکنده گیاهی تولید می‌شود[۱و۲]. بهای زیاد عسل خالص و تازه، در کنار زمان‌بری، دقیق کم، پرهزینه و تخصصی بودن روش‌های تشخیص خلوص و تازگی آن و همچنین استقبال مصرف‌کنندگان برای خرید عسل تک‌گل خالص سبب شده است تا فروش عسل نامرغوب سال‌خورده به جای عسلی خالص و تازه همواره مورد توجه سودجویان قرار بگیرد [۳ و۴] . عسل حاوی فلوروفورهای ذاتی بی‌شماری است که بررسی آن را با طیف-سنجی فلورسانس مناسب می سازد [۵]. اگرچه بسیاری از ترکیبات و ویژگی‌های شیمیایی منحصر به فرد عسل در نگهداری بلند مدت تغییر نمی کنند، امّا برخی روندهای شیمیایی و بیوشیمیایی مانند تخمیر، اکسیداسیون یا کاهش آب‌قندها موجب تغییراتی در مقدار اسیدیته و تشکیل موادی چون هیدروکسی متیل فورفورال می شوند. این عوامل ویژگی-های حسی عسل (رنگ، بو، مزه و ...) را تغییر داده و موجب کاهش کیفیت آن می‌شوند[۱]. مولکول فلوروفور هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) ترکیبی است آلی، که در عسل تازه به مقادیر ناچیز وجود دارد و به طور طبیعی با گذشت زمان از طریق تجزیه فروکتوز بر مقدار آن افزوده شده و به PH عسل و درجه حرارت محل نگهداری آن نیز وابسته است [۶]. از اندازه گیری میزان HMF، اغلب جهت سنجش کیفیت عسل استفاده می‌شود، زیرا مقادیر بالای آن در عسل ممکن است از انباشت نامناسب و طولانی مدت، تقلب با شیرین‌کننده‌ها یا عملیات حرارتی شدید برای کاهش گرانروی عسل ناشی شود [۷]. از این رو، در این تحقیق به عنوان یک نشانگر، جهت تشخیص عسل تازه از یک‌ساله در نظر گرفته شده است. حداکثر میزان پذیرفته شده HMF حدود ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم است [۲]. طیف-سنجی فلورسانس القایی لیزری در مقایسه با روش‌های طیف-سنجی جذبی رایج، حسّاسیتی ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیش‌تر دارد که بر این اساس یک روش سریع، دقیق، کم‌هزینه و غیرمخرب برای تشخیص تازگی عسل‌های تک‌گل خالص با منشأ گیاهی مختلف تدوین نموده ایم [۸] .

۲-مبانی علمی

هدف اصلی این پژوهش، تشخیص عسل تک‌گل خالص و تازه از عسل‌های تک‌گل انباشت شده به روش مشخصه یابی نوری است. عسل ماتریس پیچیده‌ای شامل فلوروفورهای مختلف است که همپوشانی سیگنال‌های آن‌ها می‌تواند اندازه‌گیری غلظت یک ترکیب منحصر به فرد را غیرممکن سازد. با این وجود، شکل طیف فلورسانس همراه با تحلیل‌های آماری چندمتغیره می‌تواند امکان توصیف و شناسایی ترکیب‌های مختلف بر اساس ویژگی-های فلورسانس آن‌ها (که به شدت تحت تاثیر محیط قرار دارند) را فراهم آورد[۸]. روش پیشنهادی در این پژوهش بر پایه فرآیند خودجذبیِ طیف فلورسانس القایی لیزری تولیدشده در محیط انتشار و تأثیر آن بر مشخصه‌های طیف آشکارسازی شده استوار است. دراین پژوهش، برای نخستین بار میزان HMF عسل تک-گل بر اساس تأثیر غلظت آن بر آهنگ خود-جذبی فلورسانس القایی لیزری تولیدشده توسط فلاونوئیدها اندازه‌گیری می‌شود.

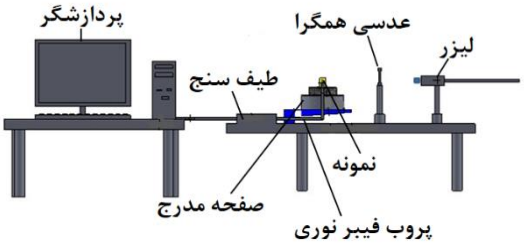
۳-شرح آزمایش

شکل ۱ طرح کلّی آرایه اندازه گیری را نشان می دهد. از نور تکفام لیزر دیودی nm ۴۰۵ با توان mW ۳۰۰ برای برانگیزش نمونه‌های عسل تک‌گل استفاده شده است. نمونه‌های عسل تک‌گل در ظروف ویال شیشه‌ای به وسیله بازوی نگهدارنده در فاصله ۵۰ سانتی‌متری مقابل لیزر قرار گرفته‌اند. تابش فلورسانس نمونه‌ها توسط پروب فیبر نوری با دریچه عددی ۰,۲۲ که قابلیت چرخش زاویه‌ای دارد به طیف‌سنج هدایت شده‌اند. در آزمایشات طیف‌سنجی LIF ، طیف‌سنج نوری مدل AvaSpec-2048 با قدرت تفکیک ۰,۴ نانومتر به کار رفته است. با استفاده از یک عدسی همگرا، پرتو لیزر بر نمونه متمرکز شد تا بتوان بیش‌ترین میزان فلوروفور غیربرانگیخته را در فاصله‌ی

این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-19]

تحریک نور لیزر در نمونه تا پروب فیبر نوری ایجاد نمود. بر این اساس با چرخش پروب فیبر نوری می‌توان تأثیر باز جذب فلورسانس توسط فلوروفورهای غیربرانگیخته را بررسی نمود. از آنجا که خودجذبی و نیز پراکندگی‌ها در محیط با کاهش شدّت فلورسانس نیز همراه است، به منظور حفظ شدت لازم برای آشکارسازی، پروب می بایست در زاویه بهینه ای قرار داده شود. بررسی تجربی نمونه‌های مختلف عسل خالص نشان داد که زوایای آشکارسازی ۳۰ تا ۶۰ درجه بهترین ناحیه ی آشکارسازی و اجرای روش هستند.

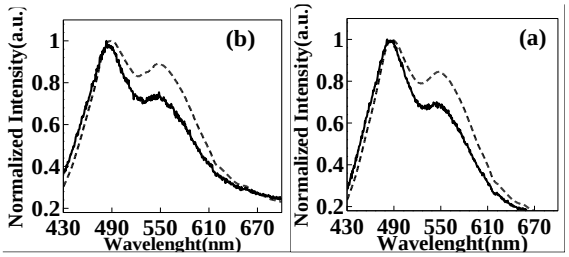


شکل ۱: شماتیک چیدمان طیف‌سنجی LIF .

از هشت نمونه عسل خالص تازه تک گل با منشأ گیاهی گون، مرکبات، نمدار، کنار، بهاره، اکالیپتوس و آویشن و ایمن دیابتی در دو زاویه آشکارسازی ۳۰ و ۶۰ درجه نسبت به محل تابش لیزر، طیف فلورسانس القائی لیزری گرفته شد. نمونه‌های عسل به مدت یک‌سال در دمای اتاق $^{\circ}C$ (۲۵$\pm$۵) نگهداری شدند. پس از یک‌سال مجدداً طیف‌سنجی فلورسانس القائی لیزری انجام شد و نتایج حاصل با طیف‌سنجی نمونه‌های تازه مقایسه گردید. تکرار آزمایش های طیف سنجی فلورسانس القایی لیزری نتایج مشابهی را به همراه داشت که نشان دهنده تکرار پذیر بودن این روش است.

۴-بحث و تحلیل نتایج

تحلیل آماری شدت طیف‌های LIF حاصل از نمونه‌های تازه و سال‌خورده پس از بهنجارش در گستره طیفی ۴۳۰ تا ۷۰۰ نانومتر نشان داد که طیف LIF نمونه تازه هر عسل تک‌گل با منشأ گیاهی مختلف در مقایسه با طیف LIF همان عسل پس از یک‌سال در ۵ طول‌موج از این گستره، بیش‌ترین تفاوت شدت را دارد. این ۵ طول موج عبارتند از طول‌موج‌های ۴۵۰، ۴۸۵، ۵۲۵، ۵۴۵ و ۵۷۵ نانومتر . تفاوت طیف‌های LIF بهنجار شده یک نمونه عسل مرکبات تازه با نمونه یکساله آن که در دو زاویه ۳۰ و ۶۰ درجه نسبت به خط تابش آشکارسازی شده اند، در شکل ۲ نشان داده شده است.



شکل ۲: طیف LIF نرمال‌شده عسل مرکبات تازه (خط) و سالخورده (نقطه‌چین) با زاویه آشکارسازی (a) ۳۰ درجه (b) ۶۰ درجه.

آهنگ بازجذب نمونه عسل یک‌ساله در مقایسه با آهنگ بازجذب عسل تازه بیشتر است و علت این امر افزایش فلورفورهای HMF در نمونه‌های یک‌ساله است. جهت تشخیص تازگی گونه‌های عسل با منشأ گیاهی مختلف مبتنی برمیزان آهنگ بازجذب، فاکتورQ به صورت زیر تعریف شد.

$$Q = \frac{I_{450} + I_{485} + I_{525} + I_{545} + I_{575}}{I_{545}} \qquad (۱)$$

در رابطه (۱)، I_i میانگین شدت طیف LIF نمونه ها در طول‌موج i ام است. نتایج حاصل از محاسبه Q برای گونه‌های عسل با منشأ گیاهی مختلف در دو وضعیت تازه و یک‌ساله در جدول ۱ نشان داده شده است. بررسی جدول ۱ بیانگر آن است که برای هر گونه با منشأ گیاهی مختلف مقدار فاکتور Q متعلّق به نمونه عسل تک‌گل یکساله از نمونه تازه آن در هر دو زاویه ۳۰ و ۶۰ درجه کمتر است که معیاری برای تشخیص تازگی عسل‌های تک‌گل با منشأ گیاهی مختلف می‌باشد. با داشتن اطلاعات جدول ۱ مقدار HMF را می توان با رابطه (۲) به دست آورد که ضریب تناسب ۱۰۰ بر اساس داده های تجربی انتخاب شده است.

$$HMF = \frac{(100 \times I_{545})}{Q} \qquad (۲)$$

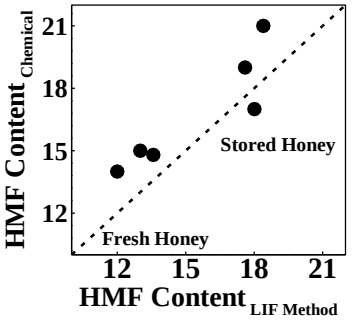
این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-19]

جدول ۱: مقایسه مقادیر فاکتور Q برای عسل‌های با منشأ گیاهی مختلف در دو وضعیت تازه و سالخورده، به دست‌آمده از طیف LIF گونه‌ها در دو زاویه آشکارسازی ۳۰ و ۶۰ درجه نسبت به خط تابش.

	زاویه ۳۰ درجه		زاویه ۶۰ درجه	
گونه	Q_{Fresh}	Q_{Stored}	Q_{Fresh}	Q_{Stored}
گون	۴٫۶۷±۰٫۰۲	۴٫۲۸±۰٫۰۲	۴٫۴۹±۰٫۰۲	۴٫۲۶±۰٫۰۲
مرکبات	۵٫۰۱± ۰٫۰۲	۴٫۵۲±۰٫۰۲	۵٫۰۳±۰٫۰۲	۴٫۵۲±۰٫۰۲
نمدار	۴٫۴۰± ۰٫۰۲	۴٫۱۸±۰٫۰۲	۴٫۴۵±۰٫۰۲	۴٫۰۲±۰٫۰۲
کنار	۴٫۳۵±۰٫۰۲	۳٫۶۸±۰٫۰۲	۴٫۱۵±۰٫۰۲	۳٫۸۱±۰٫۰۲
بهاره	۴٫۳۵±۰٫۰۲	۴٫۰۳±۰٫۰۲	۴٫۳۹±۰٫۰۲	۴٫۲۴±۰٫۰۲
اکالیپتوس	۴٫۳۷±۰٫۰۲	۴٫۱۲±۰٫۰۲	۴٫۴۷±۰٫۰۲	۴٫۲۰±۰٫۰۲
آویشن	۴٫۴۶±۰٫۰۲	۴٫۲۰±۰٫۰۲	۴٫۴۱±۰٫۰۲	۳٫۹۵±۰٫۰۲
ایمن دیابتی	۴٫۴۸±۰٫۰۲	۴٫۰۶±۰٫۰۲	۴٫۵۲±۰٫۰۲	۴٫۱۰±۰٫۰۲

برای سه نمونه عسل با منشأ گیاهی مختلف، نتایج حاصل از اندازه‌گیری با روش مذکور، با نتایج آزمایش راستی سنجی شیمیایی مقایسه شد که در شکل ۳ مشاهده می‌شود.



شکل ۲ منحنی همبستگی نتایج آزمایش LIF با نتایج آزمایش شیمیایی تعیین HMF..

۵-نتیجه‌گیری

هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) یک فلوروفور آلی است که عمدتاً در عسل های تازه وجود ندارد و با گذشت زمان به طورطبیعی در اثر تجزیه فروکتوز یا عوامل دیگر مانند حرارت دهی، تقلب با شیرین کننده‌ها و نگهداری نامناسب در عسل تولید می‌شود. به همین دلیل میزان HMF معیاری از کیفیت و عمر عسل است. بررسی کیفی و کمی طیف‌های فلورسانس القائی لیزری نمونه‌های عسل با منشأ گیاهی مختلف در دو وضعیت تازه و یک‌ساله نشان می‌دهد، افزایش غلظت HMF ، افزایش آهنگ بازجذب یا به عبارتی کاهش فاکتور Q در گونه‌های مختلف را به دنبال دارد که با طیف-سنجی LIF به صورت سریع، دقیق و تکرار پذیر قابل اندازه-گیری است. از آن‌جا که مقدار HMF تولیدشده به طور طبیعی در عسل با گذشت یک‌سال حدوداً ۵-۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عسل است، روش مذکور دارای قدرت تفکیک بسیار مناسب در تعیین مقدار HMF در نمونه‌های با HMF بیش از ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم عسل است.

مرجع‌ها:

[1] M. José Alvarez-Suarez Editor “Bee Products - Chemical and Biological Properties”, 2017.

[2] Codex Alimentarius, Revised codex standard for honey, Codex Stan 12-1981 Rev.2, 2001.

[3] S. Sivakesava and J. Irudayaraj., “Detection of inverted beet sugar adulteration of honey by FTIR spectroscopy”, Journal of the Science of Food and Agriculture., 81, P.P. 683-690, 2001.

[4] L. Oddo, L. Piana., S. Anov., A. Bentabol., and P. Kerkliet. “Botanical species giving unifloral honey in Europe. Apidologie”. 35, p.p 82-S93, 2004.

[5] K. Ruoff,, R.Karoui., E. Dufour., W.Luginbühl., J.O.Bosset., S. Bogdanov., and R. Amadò. “Authentication of the botanical origin of honey by front – face fluorescence spectroscopy. A preliminary study”, J. Agric. Food Chem., 53, p.p 1343-1347, 2005.

[6] K. Ruoff., and S. Bogdanov., “Authenticity of honey and other bee products”, APIACTA. 38, p.p 317-327, 2004.

[7] Bogdanov, S., 2010. Physical properties of honey. Book of honey. chapter 4.Bee Product Science, www.beehexagon.net. (Accessed: April 2008).

[8] K. Ruoff , “Authentication of the Botanical Origin of Honey” ,ETH Zurich University, 2006.

این مقاله درصورتی دارای اعتبار است که در سایت www.opsi.ir قابل دسترسی باشد.

[Downloaded from opsi.ir on 2026-11-19]