مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (37) العدد (2) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (37) No. (2) 2015

مراقبة سويّات هيدروكسي ميتيل فورفورال في العسل المتوفّر في محافظة اللّاذقية

الدكتورة ديمة الدياب*
بشرى جركس **

(تاريخ الإيداع 21 / 1 / 2015. قُبِل للنشر في 5 / 3 /2015)

□ ملخّص □

يهدف هذا البحث إلى مراقبة جودة العسل المتوفّر محلّياً بالتحليل الكيفي والكمّي لمركب 5- هيدروكسي ميتيل فورفورال 5- hydroxymethylfurfural (HMF) و التحقّق من مطابقة العسل المحليّ للمواصفة القياسية السورية. تمّ تحليل العينات المدروسة باستخدام طريقة وايت White's method التي تعتمد على القياس بمجال الأشعة فوق البنفسجية UV عند طولي موجة (284 nm, 336 nm) باستخدام مقياس الطيف الضوئي spectrophotometer، ثم تمت مقارنة النتائج مع المواصفة القياسية السورية رقم/412/ لعام /2004/. تم في هذه الدراسة اختبار خمسين عينة عسل متوفرة في السوق المحلية لمدينة اللاذقية حيث أظهرت نتائج هذه الدراسة بأن سبع عينات مخالفة للمواصفة القياسية السورية بينما كان تركيز المركب في ثلاث وأربعين عيّنة ضمن المجال المسموح به.

الكلمات المفتاحية: العسل، مراقبة، هيدروكسي ميتيل فورفورال، طريقة وايت.

*مدرسة – قسم الكيمياء التحليلية والغذائية في كلية الصيدلة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.
**طالبة دراسات عليا(ماجستير)- قسم الكيمياء التحليلية والغذائية في كلية الصيدلة- جامعة تشرين- اللاذقية- سورية.

مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العلمية _ سلسلة العلوم الصحية المجلد (37) العدد (2) 2015
Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Health Sciences Series Vol. (37) No. (2) 2015

Control of hydroxyl methyl furfural levels in available honey in Lattakia

Dr. Dima Aldiab*
Bushra Jarkas**

(Received 21 / 1 / 2015. Accepted 5 / 3 / 2015)

□ ABSTRACT □

This aim of this study was to control the quality of honey locally available by qualitative and quantitative analysis of 5-hydroxymethylfurfural compound (HMF) in order to verify the conformity of local honey Syrian standard specification. The samples were tested by using White's method depending on the measurement using spectophotometer at (284 nm, 336 nm).In comperation with the standard Syrian specifications number /412/ (2004), there were fifty test samples collected from locally available, results showed that there were seven samples do not match the Syrian standards, and forty three samples were accepted.

Keywords: Honey, control, hydroxyl methyl furfural, White`s method.

*Assistant Professor, Analytical chemistry and food Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.
**Postgraduate Student, Analytical chemistry and food Department, Faculty of Pharmacy, Tishreen University, Lattakia, Syria.

مقدّمة:

يشكّل العسل منتج مغذّي و مصدر كبير للطاقة، إضافةً لاستخدامات العسل العديدة في الطبّ الشعبي (Kumar et al., 2010). يعتبر العسل محلول مائي مركّز من السكّريات تتراوح درجة حموضته بين (3.4-6.1) تشكّل السكّريات مثل الغلوكوز والفركتوز نسبة عالية من تركيبه كما أنّه يحتوي على مزيج من البروتينات وأحماض أمينية وعضوية ومواد عطرية وأصباغ وشموع ومعادن وطلع و أنزيمات (Belitz et al., 2009).

يتمتّع العسل بالعديد من الفوائد الطبيّة، حيث أظهرت بعض الدّراسات خواصّه المضادّة للجراثيم والفطريّات وإمكانيّة استخدامه في علاج التقرّحات الجلديّة (Kumar et al., 2010)، وهو مصدر لمضادّات الأكسدة بسبب غناه بالأحماض الفينولية، الفلافونوئيدات، حمض الأسكوربيك والكارتينوئيدات (Khalil et al., 2010). يفيد العسل أيضاً في حالات الإصابة بداء السكري (Nasrolahi et al., 2012) كما أظهرت بعض الدراسات خواصّه المضادة للسرطان حيث أنّه يؤدّي إلى تثبيط الخلايا السّرطانية (Oršolic` et al., 2009).

تتناقص جودة العسل بازدياد فترة التخزين كما تتأثّر بالمعالجة الحراريّة، تعتبر المعالجة الحرارية مهمّة لتصنيع العسل وتحقيق سلامته حيث يتمّ اللّجوء إليها من أجل بسترة العسل والتخلّص من عمليات التخمّر التي تحصل فيه (Kretavičius et al., 2010)، كما تبيّن أنّها تحسّن من مظهر وقوام العسل و تثبط عملية تبلوره (Thrasyvoulou et al., 1994)، إلّا أنّ المعالجة الحراريّة للعسل تؤدّي إلى العديد من الآثار السّلبيّة مثل تحطّم المركّبات الغذائيّة (كالسكريات والبروتينات والدسم....) وبالتالي انخفاض القيمة الغذائية للعسل بالإضافة إلى تشكّل العديد من المركّبات كمركّب (HMF) الذي يعدّ مشعراً لجودة العسل (Spano et al., 2006)، كما أظهرت العديد من الدّراسات امتلاك هذا المركّب تأثيرات ضارّة حيث أنّه محرّض للطّفرة، سامّ جينياً ومسرطن للفئران (Texidió et al., 2006)، كما تبيّن أنّ له آثار سيّئة على خلايا الدّم وتبيّن أنّه محرّض للأورام و يساهم في سرطان الكولون أيضاً (Lakka and Goswami, 2011).

يتشكّل مركّب الـ (HMF) نتيجة خضوع الكربوهدرات لتفاعلات الكرملة (Belitz et al., 2009) خاصّة السكّريات السداسيّة بوسط حمضي (Gökmen et al, 2006)، كما ينتج أيضاً عن تحطّم نواتج تفاعل مايلرد (Rada-Mendoza et al., 2004)، و وجد أنّ مركّب (HMF) يمكن أن يتشكّل من تخرّب حمض الأسكوربيك (Koca et al., 2003).

حدّدت المواصفات القياسية السورية رقم/412/ لعام /2004/ حدّاً أعلى لتراكيز (HMF) لمعظم أصناف العسل وهي قيمة 40 mg/ kg و15 mg/ kg لعسل الحمضيات.

إنّ ازدياد تركيز مركّب الـ (HMF) عن الحد المسموح يشير لازدياد عمر العسل (Tosi et al., 2004) أو تعريضه للمعالجة الحرارية سواء أثناء الحصول عليه و/أو تعبئته (Grujić et al., 2012) أو أثناء التسخين من أجل التخلّص من مشكلة التبلور (Kretavičius et al., 2010). يجب عدم تسخين العسل أو معالجته حرارياً لدرجة تؤدّي لتغيّر تركيبه الأساسي أو تؤثّر على جودته، كما ويجب عدم القيام بالمعالجات الكيميائية أو البيوكيميائية للتأثير على العسل المتبلور (Codex Alimentarius., 2001)،

من جهة أخرى تزداد تراكيز (HMF) في بعض حالات غشّ العسل، و يكون غشّ العسل عادةً إمّا ببيع عسل قديم على أنّه جديد، أو استبدال صنف العسل بصنف آخر أرخص ثمناً، كما يمكن أن يتمّ الغشّ بإضافة مواد رخيصة للعسل والذي يكون إمّا بشكل خارجي أو داخلي، حيث يتمّ الغشّ الخارجي للعسل بإضافة شراب نشاء الذّرة الغنيّ

بالغلوكوز أو شراب نشاء الذّرة الغني بالفركتوز أو شراب السكّر المنقلب، بينما يكون الغشّ الداخلي للعسل بالتأثير على غذاء النحل أثناء إنتاج العسل بإطعامه شراب السكروز المنقلب كتغذية مدعمة (Cordella et al., 2003).

تتمّ مراقبة جودة العسل من خلال العديد من الاختبارات والتي تشمل الاختبارات الحسيّة والبيولوجية والفيزيائية والكيميائية، وتشمل الاختبارات الحسية تحديد اللّون والطعم والرائحة، أمّا الاختبارات البيولوجية فيتم فيها تحديد الخمائر والبكتريا الكليّة والممرضة (Özcan et al., 2006)، في حين يتم تحديد النشاط المائي والرطوبة (Bogdanov, 2002) واللزوجة (Cordella et al., 2003) أثناء إجراء الاختبارات الفيزيائية، وأخيراً تعتمد الاختبارات الكيميائية لمراقبة جودة العسل على قياس الحموضة الكلية والرماد وتحديد السكريات كالغلوكوز والفركتوز والسكروز وتحديد فعاليّة أنزيم الديأستاز Diastase كما يندرج ضمن هذه المجموعة من الاختبارات قياس تركيز (HMF) (Ayansola et al., 2011).

في هذه الدراسة تمّ استخدام طريقة وايت لقياس سويات (HMF) في بعض عيّنات العسل المتوفّر في السوق المحلية لمحافظة اللاذقية، حيث تعدّ طريقة وايت طريقة مرجعية ودستورية و تعتمد على استخدام القياس بمجال الأشعة فوق البنفسجية UV عند طولي موجة (284 nm, 336 nm).

أهميّة البحث وأهدافه:

أهميّة البحث:

تعتبر دراسة مستويات هيدروكسي ميتيل فورفورال في العسل مشعراً لجودة العسل، كما أن لتحديد مستويات هذا المركب أهمية صحية حيث أن له تأثيرات ضارة على صحة المستهلك.

هدف البحث:

يهدف هذا البحث المنجز إلى مراقبة جودة العسل المتوفّر محلياً بالتحليل الكيفي والكمّي للهيدروكسي ميتيل فورفورال من أجل التحقّق من مطابقة العسل المحلّي للمواصفة القياسية السورية.

طرائق البحث ومواده:

- **المواد والتجهيزات المستخدمة:**

استخدمت مجموعة من التجهيزات المتوفّرة في مخابر كليّة الصيدلة وتضمّ ميزان حساس (Precisa XB 220 A) ومقياس الطيف الضوئي (Jasco v- 530UV) وحمام مائي (ESM-3711-H)، كما تم استخدام مجموعة من المواد والمحلات وتضم هيدروكسي ميتيل فوروفورال عياري (SIGMA-ALDRICH) وبوتاسيوم هكساسيانوفرات (Riedel-de Haën) وأستات الزنك (RECTAPUR) وبي سلفيت الصوديوم (Riedel-de Haën)، وتمّ الحصول على مجموعة من العينات المدروسة من مصادر مختلفة (المنتج مباشرةً، السوق المحلية) موضّحة في الجدول (1).

- **الاعتيان:**

جمعت خمسين عينة مختلفة من أصناف العسل المتوفرة في أسواق محافظة اللاذقية توزّعت ما بين اثنتين وأربعين عيّنة من المنتج مباشرةً وثمان عينات مسوقة تجارياً. تم إنتاج العينات المدروسة في الفترة الواقعة بين الشهر 12 /2012 والشهر 7 /2014 وذلك تبعاً لما ورد على عبوات العسل ما عدا عينتين لم يعرف الصنف أو تاريخ الإنتاج. تم تحليل معظم العينات المدروسة بين الشهرين 7- 8/ 2014 ما عدا العينات المُنتَجة بدءاً من

5 /2014 فقد تمّ تحليلها في الشهر 9 /2014 حفظت جميع العينات المدروسة بعد الحصول عليها في درجة حرارة (25 C^o) حتى إجراء التحليل.

- **الطرائق التحليلية:**

استخدمت طريقة وايت التي تعتمد على استخدام جهاز spectrophotometer وقياس الامتصاصية بمجال الأشعة فوق البنفسجية عند طولي موجة (284 nm, 336 nm)، ومن ثمّ تمّ حساب تراكيز مركب (HMF) بتطبيق المعادلة التالية:

$$\mathbf{HMF}_{(mg/kg)} = (A_{284} - A_{336}) \times 149.7 \times 5 / W$$

حيث أنّ:

$HMF_{(mg/kg)}$: عدد ميلي غرامات مركب (HMF) في (1 kg) عسل.

A_{285}: الامتصاصية عند طول موجة (284 nm).

A_{336}: امتصاصية الشوائب عند طول موجة (336 nm).

W: وزن عينة العسل مقدراً بالغرام.

كما هو موضّح بالمعادلة تمّ الأخذ بعين الاعتبار الامتصاصية الناتجة عن الشوائب (336 nm) وطرح قيمتها من الامتصاصية الكلية للعينة (284 nm) و ذلك من أجل التقليل من الخطأ الناتج عن وجود الشوائب ما أمكن (International Honey Commission, 2002).

تمّ تطبيق طريقة وايت بحل 5 غ من عيّنة العسل في 25 مل من الماء المقطّر ثمّ تمت إضافة 0.5 مل من محلول كاريز 1 (بوتاسيوم هكساسيانوفرات 15%) مع المزج الجيّد، ومن ثمّ إضافة 0.5 مل من محلول كاريز 2 (أسيتات الزنك 30%) مع المزج الجيد. بعد ذلك أكمل الحجم إلى 50 مل بالماء المقطر ثمّ أجريت عملية الترشيح والتخلّص من أوّل 10 مل من الرشاحة. ثمّ يؤخذ 5 مل من الرشاحة الناتجة في أنبوب اختبار و يضاف لها 5 مل من الماء المقطّر و بذلك تصبح العيّنة جاهزة للقياس. يجري في الوقت نفسه تحضير الشاهد من خلال أخذ 5 مل من الرشاحة في أنبوب اختبار ثاني و إضافة 5 مل من محلول بي سلفيت الصوديوم (0.2 %) بدلاً من الماء المقطر ومن ثم تقاس الامتصاصية باستخدام مقياس الطيف الضوئي في مجال الأشعة فوق البنفسجية عند طولي موجة (284 nm, 336 nm).

تمّت دراسة دقّة طريقة وايت من خلال دراسة تكراريّة الطريقة خلال يوم واحد وخلال عدّة أيام، أثناء دراسة تكرارية طريقة وايت خلال يوم واحد: تمّ قياس تركيز مركب (HMF) عدّة مرات في إحدى عيّنات العسل المستخدمة حيث كررت التجربة ست مرات في نفس اليوم تبعاً للخطوات الموضحة في الفقرة السابقة ثم حسب كلاً من المتوسط الحسابي للتراكيز الستة الناتجة والانحراف المعياري و الانحراف المعياري النسبي. أثناء دراسة تكرارية طريقة وايت خلال عدة أيام تم قياس تركيز مركب (HMF) في إحدى عينات العسل المستخدمة وفقاً للخطوات الموضحة سابقاً إلّا أنّ التجربة كررت ست مرات في ستّة أيام مختلفة بحيث جرى قياس تركيز (HMF) في اليوم نفسه الذي تمّ به تحضير العيّنة ثمّ حسب كل من المتوسط الحسابي للتراكيز الستة الناتجة والانحراف المعياري الانحراف المعياري النسبي.

النتائج والمناقشة:

كان المتوسّط الحسابي لتراكيز المركّب أثناء تكرار التجربة ستّ مرات في اليوم نفسه (33.8 ± 0.15 mg/ kg)، أمّا الانحراف المعياري النسبي فكان (0.44 %)، في حين كان المتوسط الحسابي لتراكيز مركّب (HMF) أثناء تكرار التجربة ستّ مرات في ستّة أيام (33.3 ± 0.36 mg/ kg)، أمّا الانحراف المعياري النّسبي فكان (1 %). اعتماداً على نتائج تكراريّة طريقة وايت خلال يوم واحد و خلال عدّة أيام يمكن القول إنّ للطّريقة دقّة مقبولة ذلك أنّ الانحراف المعياري النّسبي في كلا الحالتين كان أقلّ من 10%. بعد التأكّد من دقّة الطّريقة تمّ اعتمادها لقياس تركيز مركّب (HMF) في خمسين عينة من العسل المتوفّر في السّوق المحليّة حيث تمّ الحصول على هذه العيّنات إمّا من المنتج مباشرةً أو بعد تسويقها تجاريّاً وتظهر النتائج في الجدول رقم (1).

أظهرت النتائج أنّ معظم العيّنات المدروسة كانت مطابقة للمواصفة القياسيّة السوريّة حيث احتوت ثلاث وأربعين عيّنة على تركيز (HMF) ضمن المجال المسموح في حين تمّ رفض سبع عيّنات من العيّنات الخمسين المدروسة (العينات1، 2 ،3، 4 ،15،22 ،45). إلّا أنّه على الرّغم من مطابقة ثلاث وأربعين عينة للمواصفة السورية فقد تباين فيما بينها بشكل ملحوظ تركيز (HMF) حيث احتوت تسع عينات (العينات 18, 12, 11, 10) 48 42 33, 24, 20 على تراكيز قريبة من الحد الأعلى المسموح بين (38–40 mg/ kg). يمكن أن يعزى اختلاف تركيز (HMF) من عينة إلى عينة أخرى لعدة عوامل حيث أنها من أصناف عسل مختلفة و بالتالي يتباين فيها تركيب العسل كمحتواه من السكريات أو درجة الحموضة والرطوبة بالإضافة إلى ذلك فقد تباين عمر هذه العينات ما بين عينات منتجة بالشهر الأخير لعام (2012) إلى عينات منتجة بالشهر السابع لعام (2014) ومن المعروف أنّ تركيب العسل وعمره يؤثّر على تشكّل مركّب (HMF). أخيراً لم تتوفّر معلومات عن الظروف التي خضعت لها عينات العسل وخاصة درجة الحرارة سواء أثناء الحصول عليها من أقراص خلية النحل أو أثناء حفظها من تاريخ الإنتاج وحتى تاريخ الشراء ومن المعروف أن هذه الظروف تؤثر على تشكل المركب المدروس، أما بعد الحصول على العينات فقد تم تخزينها بدرجة الحرارة ذاتها ($25\ C^o$) و بمعزل عن حرارة الشمس. أجريت دراسة مشابهة في إيطاليا لقياس تركيز (HMF) في العسل باستخدام طريقة وايت حيث شملت الدراسة عشرين عينة من أصناف عسل مختلفة، وكان هناك عشر عينات غير مطابقة للمواصفات القياسية (Spano et al., 2006).

بالنسبة لعيّنات العسل السبعة المخالفة للمواصفة القياسية السورية كانت أربع منها تتبع صنف الحمضيات ومن المعروف أنّ عسل الحمضيات هو الصنف الأكثر حساسية و تأثّراً بالتخزين من بين أنواع العسل المختلفة وذلك بسبب درجة حموضته المرتفعة بالمقارنة مع الأصناف الأخرى وكما ذكر سابقاً فإنّ درجة الحموضة تعتبر من العوامل المهمّة والمساعدة في زيادة تشكّل مركّب (HMF)، إضافة فقد تمّ تخزين هذه العيّنات لأكثر من عام. في إيطاليا أجريت دراسة مشابهة باستخدام طريقة وايت شملت 14 عينة عسل وتبيّن في هذه الدراسة مخالفة 3 عينات تعود اثنتان منها لصنف الحمضيّات حيث تجاوز تركيز مركّب (HMF) فيها (15 mg/ kg) وهو الحدّ الأعلى المسموح بالنسبة لعسل الحمضيات (Zappalá et al., 2005). أمّا بالنسبة للعيّنات الثلاثة الأخرى المخالفة في الدراسة المجراة في كلية الصيدلة (العينات 15، 22، 45) فهي عيّنات مخزّنة منذ بداية عام (2013) أي عينات أقدم من باقي العينات المدروسة وهذا من العوامل المسبّبة لازدياد تراكيز مركّب (HMF).

جدول (1): تراكيز مركب (HMF) مقدرةً بـmg/kg في خمسين عيّنة عسل من السّوق السّورية

رقم العينة	صنف العسل	تاريخ الإنتاج	تركيز (HMF) Mg/ kg	رقم العينة	صنف العسل	تاريخ الإنتاج	تركيز (HMF) Mg/ kg
1	حمضيات	2/2013	25	26	عجرم	6/2014	37.4
2	حمضيات	2/2013	27	27	سنديان	7/2013	25.6
3	حمضيات	2/2013	26.9	28	سنديان	9/2013	33.2
4	حمضيات	1/2013	25	29	سنديان	9/2013	33.1
5	جبلي	11/2013	35.2	30	سنديان	5/2014	34.5
6	جبلي	9/2013	36.3	31	سنديان	3/2014	25
7	جبلي	7/2013	36	32	سنديان	5/2014	25.2
8	جبلي	6/2013	24.8	33	حبة البركة	7/2013	39.5
9	جبلي	6/2013	34	34	حبة البركة	10/2013	24.9
10	جبلي	6/2014	38.2	35	حبة البركة	11/2013	33.7
11	جبلي	9/2013	39.1	36	حبة البركة	1/2014	29.2
12	جبلي	8/2013	39	37	كينا	3/2014	29.1
13	يانسون	6/2013	34.1	38	كينا	5/2013	37.3
14	يانسون	6/2013	30.2	39	كينا	6/2014	25
15	يانسون	2/2013	41.1	40	شوكيات	5/2014	28.1
16	يانسون	6/2014	30.4	41	شوكيات	1/2013	33.2
17	يانسون	1/2013	25.4	42	شوكيات	6/2013	38.9
18	يانسون	7/2014	38	43	متنوع	8/2013	35.8
19	يانسون	5/2014	25	44	متنوع	9/2013	37.3
20	يانسون	2/2013	39.5	45	متنوع	12/2012	41.1
21	عجرم	11/2013	35	46	متنوع	4/2014	25.1
22	عجرم	4/2013	41.5	47	متنوع	12/2013	34.6
23	عجرم	3/2014	25.9	48	متنوع	6/2014	38
24	عجرم	6/2013	39.7	49	متنوع	–	35.2
25	عجرم	12/2013	37.5	50	متنوع	–	36.1

الاستنتاجات والتوصيات:

الاستنتاجات:

-تباينت تراكيز في عيّنات العسل المدروسة حيث وجد سبع عينات مخالفة للمواصفة القياسيّة السوريّة من أصل خمسين عيّنة مدروسة وثلاث وأربعون عينة مطابقة للمواصفات.

-تبيّن أنّ جميع العيّنات تحتوي على مركّب (HMF) بنسب متباينة كان منها عيّنات قريبة من الحدّ الأعلى المسموح به.

-أظهرت النتائج أنّ العيّنات المخالفة للمواصفة السورية هي العيّنات الأقدم ممّا يشير إلى علاقة ما بين عمر العسل و تشكّل مركّب (HMF).

التّوصيات:

-دراسة تأثير العوامل المختلفة على تشكّل مركّب (HMF) في العسل مثل المعالجة الحراريّة و ظروف التخزين وعمر العسل إضافة إلى مراقبة أساليب تغذية النّحل المتّبعة من قبل مربّي النّحل.

-ضرورة توعية المواطن للمخاطر الصّحيّة التي تنجم عن استهلاك أصناف عسل غير مطابقة للمواصفات.

-متابعة الدّراسة من خلال تطبيق فحوص مراقبة جودة العسل الأخرى الكيميائيّة والفيزيائيّة.

المراجع:

1. AYANSOLA, A. A.; BANGO, A. D. *Physico-chemical evaluation of the authenticity of* honey *marketed in Southwestern Nigeria.* Journal of basic and applied scientific research, Vol. 12, 2011, 3339-3344.

2. BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. *Food chemistry, 4th revised and extended edition*, Vol. 19, 2009, 906-930.

3. BOGDANOV, S. *Harmonised method of the International Honey Commission.* International honey commission, Switzerland. 2002, 28-30.

4. Codex alimentarius. *Codex standard for honey*, CODEX STAN, Vol. 12, 1981, 2001, 1-8.

5. CORDELLA, C.; FAUCON, J. P.; CABROL-Bass, D.; SBIRRAZZOULI, N. *Application of DSC as a tool for honey floral species characterization and adulteration detection.* Journal of thermal analysis and calorimetry, Vol. 71, 2003, 275-286..

6. GÖKMEN, V.; *SENYUVA, H. Rapid determination of hydroxymethylfurfural in foods using liquid chromatography-mass spectrometry, (Food industry)* Ankara, *Improved method for the determination of hydroxymethylfurfural in baby foods using liquid chromatography-mass spectrometry*. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. 54, 2006, 2845-2849.

7. GÖKMEN, V. *Analysis of HMF by HPLC*. Building skills on the analysis of thermal process contaminants in foods Ankara, 2007.

8. GRUJIĆ, S.; KOMIĆ, J. *Classification of honeys from three geographical regions based on their quality control data.* Quality of life, Vol. 3, 2012, 13-26.

9. KHALIL, M. I.; SULAIMAN, S. A.; BOUKRAA, L. *Antioxidant Properties of Honey and Its Role in Preventing Health Disorder.* The Open Nutraceuticals Journal, Vol. 3, 2010, 6-16.

10. KOCA, N.; BURDURLU, H. S.; KARADENIZ, F. *Kinetics of nonenzymatic browning reaction in citrus juice concentrates during storage.* Turk j agric for, Vol. 27, 2003, 353-360.

11. KRETAVHIČIUS, J.; KURTINAITIENE, B.; RACYS, J.; CEKSTERYIT, V. *Inactivation of glucose oxidase during heat-treatment de-crytallization of honey.* Žemdirbyste=Agriculture, Vol. 97, 2010, 115-122.

12. KUMAR, K. B.; BHOWMIC, D.; CHIRANJIP.; BISWAJIT.; CHANDRIA, M. R. *Medicinal uses and health benefits of Honey: An Overview.* Journal of chemical and pharmaceutical research, Vol. 2(1), 2010, 385-395.

13. LAKKA, N. S.; GOSEWAMI, N. *A novel isocratic RP-HPLC method development and validation for estimation of 5HMF in Levofloxacin Hemihydrate intravenous infusion*. Int. J. Res. Pharm. Sci, Vol. 2, 2011, 45-51.

14. MEHRYAR, L.; ESMAIILI, *M. Honey & honey adulteration detection: a review*. Department of food science and technology, University of Urmia, Iran.

15. NASROLAHI, O.; HEIDARI, R.; RAHMANI, F.; FAROKHI, F. *Effect of natural honey from Ilam and metformin for improving glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats.* Avicenna Journal of phytomedicine, Vol. 2, 2012, 212-221.

16. ORŠOLIC, N. *Bee honey and cancer.* Journal of apiproduct and apimedical Science, Vol. 4, 2009, 93-103.

17. ÖZCAN, M.; ARSLAN, D.; CEYLAN, D. A. *Effect of inverted saccharose on some properties of honey.* Food chemistry, Vol. 99, 2006, 24-29.

18. RADA-MENDOZA, M.; SANZ, M. L.; OLANO, A.; VILLAMIEL, M. *Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods*. Food chemistry Spain, Vol. 85, 2004, 605–609.

19. SPANO, N.; CASULA, L.; PANZANELLI, A.; PILO, M. I.; PIU, P. C.; SCANU, R.; TAPPARO, A.; Sanna, G. *An RP-HPLC determination of 5-hydroxymethylfurfural in honeyThe case of strawberry tree honey.* Talanta, Italy, Vol. 68, 2006, 1390–1395.

20. TEIXIDÓ, E.; SANTOS, F. J.; PUIGNOU, L.; GALCERAN, M. T. *Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in foods by gas chromatography–mass spectrometry.* Journal of chromatography A, Vol. 1135, 2006, 85-90.

21. THRASYVOULOU, A.; MANIKIS, J.; TSELIOS, D. *Liquefying crystallized honey with ultrasonic waves.* Apidologie, Vol. 25, 1994, 297-302.

22. TOSI, E. A.; Ré, E.; LUCERO, H.; BULACIO, L. *Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal inhibition.* Lebensm.-Wiss. u.-Technol, Vol. 37, 2004, 669-678.

23. ZAPPALÁ, M.; FALLICO, B.; ARENA, E.; VERZERA, A. *Methods for the determination of HMF in honey: a comparison.* Food control, Vol. 16, 2005, 273-277.