مهندسی بیوسیستم ایران، دوره ۵۱، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۹ (ص ۴۴۳-۴۳۳) DOI: 10.22059/ijbse.2020.290103.665230

Investigation of the Thermal Processing Effect on Physicochemical Properties of Honey and Process Optimization by Response Surface Methodology

SHOHREH ZARGAR TIZABI[1], MARYAM JALILI [2*], ANOOSHEH RAHMANI[2]
1. Department of Nutrition, Ahvaz Jundi-Shapour University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran
2. Department of Food Industries and Agricultural Research, Standard Research Institute (SRI), Karaj, Iran
(Received: Oct. 12, 2019- Revised: Dec. 5, 2019- Accepted: Feb. 5, 2020)

ABSTRACT

Response surface methodology (RSM) was applied to investigate the effect of two independent variables, including temperature and time on the physicochemical properties of honey. Results showed that the thermal processing had no significant effect on free acidity, brix, moisture content, pH and sucrose of the samples ($p > 0.05$), while its effect on hydroxymethyl furfural (HMF), proline, diastase, red color and blue color index was significant ($p < 0.05$). The amount of proline varied between 140 to 230 mg/kg and the diastase content varied between 5 ± 0.1 and 16.5 ± 0.2 Goethe. The HMF content of treatments was obtained between 6.9±0.2 and 274.2±1.2 mg /kg. The range of color variations in the samples ranged from 1.0±0.06 to 6.8 ± 0.40 for red and 1.1±0.06 to 5.8 ± 0.40 for blue color. The optimization results of model showed that the best temperature and time of heating (in such a way that the amount of its diastase and proline was in the maximum and amount of its HMF and color darkness was in the minimum) is 50°C and 120 min, respectively.

Keywords: Proline, Diastase, Honey, Thermal processing**,** Hydroxymethyl furfural (HMF)

*Corresponding author's Email: jalili@standard.ac.ir

بررسی اثر فرآیند حرارتی بر روی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی عسل و بهینه سازی فرآیند با استفاده از روش سطح پاسخ

شهره زرگر تیزابی[۱]، مریم جلیلی[۲*]، انوشه رحمانی[۲]

۱. دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوزستان ، اهواز، ایران

۲. عضو هیئت علمی گروه مواد غذایی، پژوهشکده صنایع غذایی و کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۷/۲۰- تاریخ بازنگری: ۱۳۹۸/۹/۱۴- تاریخ تصویب: ۱۳۹۸/۱۱/۱۶)

چکیده

با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) اثر دو متغیر مستقل دما و زمان بر روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عسل بررسی شد. نتایج نشان داد فرایندهای حرارتی اثری بر مقدار اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH و ساکارز نمونه‌ها نداشتند ($p>0/05$) اما اثر آنها بر مقدار هیدروکسی متیل فورفورال (HMF)، پرولین، دیاستاز، شاخص رنگ قرمز و رنگ آبی معنی دار بود ($p<0/05$). مقدار پرولین بین ۱۴۰ تا ۲۳۰ mg/kg و مقدار دیاستاز بین ۱/۰ ± ۵ تا ۰/۲ ± ۱۶/۵ گوته متغیر بود. مقدار HMF بین ۰/۲ ± ۶/۹ تا ۱/۲ mg/kg ± ۲۷۴/۲ در تیمارها به دست آمد. دامنه تغییرات رنگ قرمزدر نمونه‌ها از ۰/۰۶ ± ۱ تا ۰/۴۰ ± ۶/۸ و رنگ آبی ۰/۰۶ ± ۱/۱ تا ۰/۴۰ ± ۵/۸ بود. نتایج بهینه سازی مدل نشان داد که بهترین دما و زمان حرارت دهی (به نحوی که مقدار دیاستاز و پرولین آن در حداکثر و مقدار HMF و تیرگی رنگ آن در حداقل بود)، به ترتیب ۵۰ درجه سلسیوس و ۱۲۰ دقیقه است.

واژه‌های کلیدی: پرولین، دیاستاز، عسل، فرآیند حرارتی، هیدروکسی متیل فورفورال

مقدمه

عسل محصول شیرین طبیعی است که توسط زنبور از نکتار گیاهان تهیه می‌شود. زنبور شهد گل‌ها و گیاهان را برداشت نموده و آن را با ترکیبات داخل بدنش ترکیب و آبگیری می‌کند. طی فرآیندی، ابتدا مقداری از آب شهد تبخیر شده، ساکارز تجزیه می‌شود و در نتیجه قند اینورت افزایش می‌یابد (Belitz *et al.*, 2009). سپس زنبور این شهد را که به عسل تبدیل شده، در شانه-های عسل قرار داده و انبار می‌کند (Downey *et al.*, 2005). در نهایت ماده غذایی بسیار مفیدی به دست می‌آید که حداقل حاوی ۸۰ ترکیب مفید است و از این لحاظ هیچ رقیبی در جهان هستی ندارد (Blasa *et al.*, 2006). این ماده حاوی ویتامین‌ها و آنتی-اکسیدان‌های فراوانی است و از زمان‌های دور برای درمان بیماری‌ها به کار برده می‌شده‌است. از سایر مواد تشکیل دهنده آن می توان به مواد معدنی، مواد مولد عطر و طعم، پروتئین‌ها، آنزیم‌ها و قندها اشاره نمود.

اگرچه اجزای اصلی عسل تقریباً در همه آن‌ها یکسان است، اما ترکیب شیمیایی و خواص فیزیکی آن بستگی به منشاء گیاهی، شرایط فرآوری، ذخیره‌سازی و شرایط اقلیمی دارد (Bogdanov *et al.*, 2008 ; Sakac *et al.*, 2019). مهم‌ترین مواد تشکیل دهنده عسل انواع قندهای مونو و دی ساکاریدها مانند فروکتوز، گلوکز و ساکارز می‌باشند (که ۶۵ تا ۷۵ درصد از مواد جامد محلول آن را شامل می‌شوند). بیشتر ویژگی‌های تغذیه‌ای، فیزیکی و شیمیایی عسل تحت تاثیر این دو نوع قند می‌باشد (Miyata & Sato, 2000). علاوه بر آن، این ماده حاوی اسیدهای ارگانیک گوناگون نیز می‌باشد که آن را، به طور طبیعی، به یک ترکیب اسیدی تبدیل می‌کنند (Bilandzic *et al.*, 2011).

با توجه به اهمیت تغذیه‌ای و درمانی عسل، تولید کنندگان برای دستیابی به سود بیشتر دست به انواع تقلب می‌زنند. صرف‌نظر از این تقلبات، عسل معمولا به همان شکلی که تولید شده و بدون فرآیندهای پیچیده‌ای که در مورد سایر مواد غذایی انجام می‌شود، به دست مصرف کننده می‌رسد. گرچه در کارخانه‌های تولید و بسته بندی معمولا آن را با سه هدف مهم ممانعت از کریستالیزاسیون قندها، از بین بردن میکروارگانیسم‌ها و کاهش گرانروی (به منظور تسهیل در امر بسته بندی)، تحت فرآیند حرارتی قرارمی‌دهند. کارخانجات معمولا از درجه حرارت‌های متفاوتی استفاده می‌کنند و برخی از آنها به دلیل تسریع در پر کردن عسل در ظروف، درجه حرارت‌های بالاتر و زمان طولانی تری را به کار برده و سبب ایجاد تغییرات نامطلوب در عسل می‌شوند. حرارت زیاده از حد معمولا" سبب می‌شود عسل ویژگی‌های تغذیه‌ای و درمانی خود را تا حدی از دست بدهد.

* نویسنده مسئول: jalili@standard.ac.ir

به همین دلیل کنترل شرایط حرارت دادن از اهمیت زیادی برخوردار است. در سال ۲۰۰۰ میلادی گزارش شد که عسل خام حاوی آنزیم‌های فعال، ویتامین‌ها و ترکیبات شیمیایی فرار است که در طی عمل حرارت دهی به علت دناتوراسیون تخریب می‌شوند (Broadhurst, 2000). از آنجا که اندازه گیری آنزیم‌ها، ویتامین‌ها، مواد فرار و سایر ترکیبات مفید عسل بسیار پیچیده بوده و علاوه بر آن، مقدار آنها در عسل‌های مختلف متفاوت است، در طی آزمون‌های معمول در عسل، اندازه گیری نمی‌شوند و در نتیجه نمی‌توان میزان تخریب آنها را در اثر حرارت تعیین نمود. در استاندارد ملی ایران برای تعیین کیفیت عسل حد مجاز برخی ویژگی‌های فیزیکو شیمیایی مانند اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH، ساکارز، هیدروکسی متیل فوفورال، پرولین و فعالیت آنزیم دیاستاز تعیین شده است (ISIRI, 2013). حدود ۴۷ نوع اسیدهای آمینه آزاد در عسل وجود دارد که مهم‌ترین آنها (از نظر مقدار) اسید آمینه پرولین (۵۰-۸۵ درصد) است. مقدار پرولین با توجه به نوع گلی که زنبور از آن تغذیه می‌کند، در عسل‌های مختلف، متفاوت است. محتوای پرولین و فعالیت دیاستاز پارامترهای کیفی هستند که نسبت به حرارت حساس هستند زیرا هردو در اثر افزایش شدت فرآیند گرم شدن، کاهش می‌یابند (Kivrak *et al*., 2015).

وجود قندهای ساده ، اسیدیته زیاد و پایین بودن فعالیت آبی عسل سبب می‌شود که در هنگام حرارت دادن عسل، شرایط مطلوب برای تولید هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) ایجاد شود. HMF ، در عسل تازه وجود ندارد (یا در غلظت بسیار کمی وجود دارد). اما هنگامی که واکنش‌های مایلارد (واکنش قهوه‌ای-شدن غیرآنزیمی) یا کاراملیزاسیون (در pH پایین تر از ۵) رخ می‌دهد، میزان این ترکیب افزایش می‌یابد. بنابراین، HMF می‌تواند شاخصی از شدت حرارت دهی عسل باشد (Mihaly Cozmuta *et al*., 2011).

رنگ عسل اولین فاکتور حسی است که توسط مصرف کنندگان مورد ارزیابی قرارمی‌گیرد بنابراین در تجارت زنبورداری یک ویژگی بسیار مهم برای ارزشیابی محسوب می‌شود (Dominguez & Centurion, 2015). مقدار رنگ عسل در استانداردهای ملی و بین المللی تعیین نشده است زیرا یک ویژگی کاملا متغیر بوده و تابعی است از عوامل متعددی از جمله منشاء گیاهی، تک‌گل بودن یا چندگل بودن و فصلی که در آن عسل برداشت می‌شود. رنگ عسل در نمونه‌های مختلف از زرد روشن تا کهربایی تیره و حتی قرمز تیره و سیاه متفاوت است. معمولا عسل‌هایی که در ابتدای سال جمع آوری می‌شوند شدت رنگ بیشتری نشان می‌دهند و رنگ آنها کهربایی روشن است. در حالی که عسل‌هایی که در پایان سال برداشت می‌شوند تیره‌تر بوده و رنگ آن‌ها کهربایی تیره است (Moniruzzaman *et al*., 2013). عسل‌های تک گل که رنگ آنها روشن‌تر است مانند عسل آکاسیا و لیمو، فعالیت آنتی اکسیدانی کمتری نیز نسبت به عسل‌های تیره‌تر (مانند عسل صنوبر و کاج) نشان می‌دهند (Bertoncelj *et al*., 2007).

در طی هر فرآیند حرارتی دو فاکتور دما و زمان بسیار مهم هستند. معمولا در تحقیقاتی که چند متغیر مستقل بر روی یک متغیر وابسته اثر می‌کنند، روش آماری سطح پاسخ (RSM) می‌تواند بسیار مفید باشد. این روش مجموعه‌ای است از عملیات ریاضی و آماری که برای طراحی آزمون، ساخت مدل‌ها، ارزیابی اثر چند متغیر و بهینه سازی فرآیند و آزمون مناسب می‌باشند. طراحی آزمون به روش مکعب مرکزی (CCD) روش مناسبی است که به محقق امکان می‌دهد با تعداد اندکی تیمار، اثر خطی، توان دو و اثرات توام متغیرها را بررسی نماید (Sai-Nan *et al*., 2009). بنابراین، در این روش نسبت به سایر روش‌های آماری، محقق در زمان کوتاه تر و با هزینه کمتری به نتیجه می‌رسد (Kongkaew *et al*., 2012)

هدف از این تحقیق بررسی اثر دو عامل دما (در بازه ۳۰ تا ۱۰۰ درجه سلسیوس) و زمان (در بازه ۶۰ تا ۱۸۰ دقیقه) در طی فرآیند حرارتی بر روی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عسل (اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH، ساکارز، پرولین، دیاستاز، HMF و رنگ) بود.

مواد و روش ها

طراحی آزمون

با استفاده از روش سطح پاسخ (RSM) اثر دو متغیر مستقل دما و زمان (در طی فرآیند حرارتی) بر روی ویژگی‌های فیزیکی وشیمیایی عسل (اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH، ساکارز، پرولین، دیاستاز و رنگ) بررسی شد. با توجه به اطلاعات کسب شده از کارخانجات بسته‌بندی عسل، دما در بازه ۳۰ تا ۱۰۰ درجه سلسیوس و زمان در بازه ۶۰ تا ۱۸۰ دقیقه در نظرگرفته شد. طرح مکعب مرکزی (CCD) برای طراحی تیمارها به کاربرده شده و ۱۴ تیمار مختلف توسط نرم افزار (Minitab, 17:0, PA., State College, USA) ارائه شد. به منظور تعیین خطای آزمایش، نقطه مرکزی ۶ بار تکرارشد (جدول۱). ضرایب رگرسیون برای بررسی اثر خطی، اثر متقابل (برهم‌کنش) و اثر توان دوم متغیرها محاسبه و با استفاده از ضریب تبیین (R^2) کیفیت برازش معادله مدل‌ها تعیین شد. معادله کلی زیر برای تخمین پاسخ متغیرها به کاربرده شد. ضرایب بیان شده در این مدل بر اساس داده های کد نشده به دست آمده‌اند.

(رابطه ۱)

$$Yi = a_0 + a_1x_1 + a_2 x_2 + a_{11} x_1^2 + a_{22} x_2^2 + a_{12} x_1 x_2$$

که در آن، Yi متغیر وابسته، x_1 و x_2 متغیرهای مستقل (دما و زمان)، a_1 و a_2 ضرایب رگرسیون برای اثر خطی، a_{11}، a_{22} و a_{12} به ترتیب ضرایب برای اثر درجه دوم x_1 و x_2 و اثر متقابل x_1x_2 می‌باشند. اثر و ضرایب رگرسیون خطی، توان دوم و اثر متقابل متغیرها از نتایج ANOVA به دست آمد و معنی داری در سطح ۹۵ درصد ($p < ۰/۰۵$) تعیین شد. اجزایی از مدل ریاضی که اثر آن‌ها معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$) از مدل اولیه حذف و محاسبات معنی‌داری دوباره انجام شد و معادله نهایی برای هریک از متغیرهای مستقل به دست آمد.

جدول ۱- ماتریس طرح ارائه شده بر اساس دومتغیر مستقل دما و زمان با استفاده از طراحی مکعب مرکزی (CCD)

ترتیب تیمارها	بلوک	دمای (درجه سلسیوس)	زمان (دقیقه)
۱	۱	۶۵	۱۲۰
۲	۱	۱۰۰	۶۰
۳	۱	۳۰	۶۰
۴	۱	۱۰۰	۱۸۰
۵	۱	۶۵	۱۲۰
۶	۱	۳۰	۱۸۰
۷	۱	۶۵	۱۲۰
۸	۲	۶۵	۱۲۰
۹	۲	۶۵	۳۵/۱۵
۱۰	۲	۱۵/۵	۱۲۰
۱۱	۲	۶۵	۱۲۰
۱۲	۲	۶۵	۲۰۴/۸۵
۱۳	۲	۱۱۵	۱۲۰
۱۴	۲	۶۵	۱۲۰

تهیه نمونه

عسل مورد آزمون عسل چهل گیاه برداشت شده از منطقه تکاب استان آذربایجان غربی در فصل تابستان بود که حدود ۵۰ کیلوگرم از آن از کارخانه بسته‌بندی عسل مدا (واقع در استان البرز) خریداری شد. عسل خریداری شده از قبل تحت فرآیند حرارتی قرار نگرفته و هیچگونه افزودنی نیز به آن اضافه نشده بود. برای تهیه تیمارها، ابتدا شیشه‌های در پیچ دار به گنجایش ۱ کیلوگرم شسته و اتوکلاو شد و سپس حدود ۷۰۰ گرم عسل به هر شیشه اضافه شد. در شیشه‌ها کاملا بسته و بر اساس جدول شماره ۱ تحت تیمار حرارتی مربوطه قرارگرفتند. سپس ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌ها (اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH، ساکارز، پرولین، دیاستاز، HMF و رنگ) در آزمایشگاه اندازه‌گیری شد.

روش‌های آزمون

اندازه‌گیری قند به روش فهلینگ و اندازه‌گیری اسیدیته با روش تیتراسیون با هیدروکسید سدیم یک‌دهم نرمال انجام شد. برای اندازه‌گیری pH و بریکس نمونه‌ها، به ترتیب، از دستگاه pH متر (Hanna Instruments, Switzerland) و دستگاه رفراکتومتر (ATAGO Co. Ltd., Japan) استفاده‌شد. برای تعیین مقدار رطوبت، ابتدا با استفاده از دستگاه رفراکتومتر (Abbe™ 2 WAJ, China) ضریب شکست اندازه‌گیری و سپس درصد رطوبت مربوط به آن از روی جدول رابطه مابین ضریب شکست و میزان آب تعیین‌شد. این آزمون‌ها بر اساس استاندارد ملی ایران به شماره ۹۲ انجام‌شد (ISIRI, 2013). مقدار دیاستاز بر اساس روش ارائه شده در استاندارد عسل به شماره ۹۲ اندازه گیری شد. پرولین بر اساس روش ارائه‌شده در استاندارد ملی ایران به شماره ۱۱۱۴۵ اندازه‌گیری‌شد. ابتدا به مقداری نمونه عسل نین هیدرین و اسیدفرمیک افزوده و در حمام آب جوش قرارداده‌شد و سپس جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر اندازه‌گیری‌شد. مقدار رنگ نمونه‌ها (سه شاخص قرمز، زرد و آبی) با استفاده از دستگاه لاویباند مدل F (BS 684, Tintometer, UK) تعیین‌شد. هریک از آزمون‌ها سه بار تکرار و نتایج بر حسب میانگین ± انحراف استاندارد (mean±SD) گزارش شد.

اندازه گیری هیدروکسی متیل فورفورال

هیدروکسی متیل فورفورال با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد (DIN, 2002). به طور خلاصه، ۱۰ گرم از نمونه عسل با مقداری آب مقطر رقیق شده و ۱ میلی لیتر محلول کارز I (هگزاسیانوفرات پتاسیم) و ۱ میلی لیتر محلول کارز II (استات روی) به آن اضافه و با استفاده از کاغذ صافی واتمن (شماره ۴) صاف شد. دستگاه کروماتوگرافی مایع (Varian 9010, Creek, California, USA) مجهز به آشکارساز UV-VIS با طول موج متغیر (Varian 9050, Creek, California, USA) بود. ستون کروماتوگرافی (Agilent Bondesil) ازنوع فاز معکوس C_{18} به ابعاد ۱۸cm*۵cm*۴/۶mm بود. فاز متحرک شامل آب و متانول (۹۵درصد حجمی/حجمی) بود که با سرعت ۱ میلی لیتر در دقیقه در ستون جریان یافت. مقدار ۵۰ میکرولیتر از نمونه صاف شده به دستگاه کروماتوگرافی تزریق شد. مقدار HMF در نمونه‌ها از طریق مقایسه سطح زیر

پیک کروماتوگرام به دست آمده از دستگاه با منحنی کالیبراسیون محاسبه شد. هر آزمون سه بار تکرار و نتایج بر حسب میانگین ± انحراف استاندارد (mean±SD) گزارش شد.

تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری نتایج به روش تجزیه و تحلیل واریانس (ANOVA) و روش توکی انجام شد. اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای حرارتی مختلف (۱۴ تیمار) در سطح آماری ۵ درصد تعیین شد. تجزیه و تحلیل نمونه‌ها با استفاده از نرم افزار Minitab نسخه ۱۷ انجام شد.

نتایج و بحث

با استفاده از طراحی مکعب مرکزی اثر دما و زمان در طی فرآیند حرارتی بر روی ویژگی‌های عسل (اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH، ساکارز، پرولین، دیاستاز، HMF و رنگ) بررسی شد. تعداد ۱۴ نمونه عسل برحسب دما و زمان ارائه شده در جدول شماره ۱ حرارت داده شد و سپس ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌ها اندازه گیری شد. نتایج مربوط به اسیدیته، رطوبت، pH و ساکارز در جدول شماره ۲ و مقدار پرولین، دیاستاز و HMF در جدول شماره ۳ و نتایج مربوط به اندازه گیری رنگ (شاخص‌های قرمز، زرد، آبی) در جدول شماره ۴ نشان داده شده است.

چنانکه مشاهده می‌شود اختلاف معنی داری بین مقادیر اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH و ساکارز تیمارها بلافاصله پس از حرارت مشاهده نمی‌شود. به عبارت دیگر نتایج آماری با استفاده از آنالیز و واریانس نشان داد که در بازه دمایی ۳۰ تا ۱۰۰°C و گستره زمانی ۶۰ تا ۱۸۰ دقیقه (مورد بررسی در این تحقیق)، اثر عوامل دما، زمان و اثر توام دما و زمان، بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مذکور معنی دار نبوده و علاوه بر آن، این ویژگی‌ها با استاندارد ملی عسل نیز مطابقت داشتند (ISIRI, 2013).

اثر فرآیند حرارتی بر روی مقدار اسیدیته و pH

اسیدیته و pH عسل در اثر اسیدهای آلی ایجاد می‌شود و مقدار آن تابعی است از گل‌های مورد استفاده و فرآیندی که زنبور بر روی شهد انجام می‌دهد. البته گاهی ممکن است مقدار این فاکتور در اثر عمل تخمیری که توسط میکروارگانیسم‌ها انجام می‌شود، افزایش یابد. در استاندارد ملی ایران، حداکثر مجاز اسیدیته مقدار ۴۰ meq/kg تعیین شده تا اطمینان حاصل گردد که تخمیر نامناسب در نتیجه حضور میکروارگانیسم‌ها (به ویژه مخمرها) اتفاق نیفتاده است. در نتایج این بررسی نشان داده شد که مقدار اسیدیته در تیمارهای تهیه شده بین ۱۱/۹۴ meq/kg- ۷/۹۸ متغیر بوده و پس از اعمال فرآیندهای حرارتی نیز تغییر معنی داری در مقدار این فاکتور حاصل نشد (P>۰/۰۵). مقدار pH نیز در عسل بر اساس استاندارد ملی مربوطه، حداقل باید ۳/۵ باشد. نتایج نشان داد در تمامی ۱۴ تیمار انجام شده، مقدار این فاکتور در محدوده ۳/۶۶ تا ۳/۹۰ قرار داشت.

اثر فرآیند حرارتی بر روی مقدار ساکارز

مقدار ساکارز در عسل نباید بیش از ۵ درصد باشد (ISIRI, 2013). در کلیه تیمارهای تهیه شده، پس از اعمال حرارت، مقدار ساکارز کمتر از این حد مجاز تعیین شده بود (۲/۹-۲ درصد). این موضوع نشان می‌دهد که مقدار ساکارز تحت تاثیر دما و زمان فرآیند حرارتی (در محدوده ذکر شده در این تحقیق) قرار نمی‌گیرد. محققین گزارش نمودند که مقدار ساکارز و همچنین قندهای احیاکننده در عسل، نشانگر میزان رسیدگی عسل هستند و اگر عسل به قدر کافی رسیده باشد، قند ساکارز در اثر عمل آنزیم، تبدیل به فروکتوز و گلوکز می‌شود (Ouchemoukh & Louaileche, 2007).

اثر فرآیند حرارتی بر روی بریکس و رطوبت عسل

مقدار بریکس ماده غذایی، کل مواد جامد محلول در آن را نشان می‌دهد. نتایج تحقیق نشان داد تیمارهای حرارتی تعریف‌شده تأثیر معنی‌داری بر روی مقدار بریکس در عسل نداشتند. مقدار بریکس بین ۰/۰۲ ± ۸۴/۵ تا ۰/۰۱ ± ۸۶/۲ در نمونه‌ها متغیر بود.

در ۱۴ تیمار مورد بررسی در این تحقیق، مقدار رطوبت در محدوده استاندارد و بین ۱۳درصد تا ۱۵/۳درصد قرار داشت. در استاندارد ملی ایران و استاندارد بین المللی کدکس، حداکثر مقدار رطوبت مجاز ۲ درصد تعیین شده تا اطمینان حاصل گردد که تخمیر نامناسب توسط میکروارگانیسم‌ها اتفاق نمی‌افتد. در یک مطالعه مشابه Finola *et al.* (2007) گزارش نمودند که مقدار رطوبت در عسل تابعی است از فصلی که عسل در آن برداشت می‌شود.

در تایید نتایج این تحقیق، در بررسی مشابهی که توسط نعمتی و همکاران انجام شد، نمونه‌های عسل به مدت یک ساعت در دمای ۵۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. نتایج نشان‌داد مقدار رطوبت، pH و قندها در نمونه‌های حرارت دیده و نمونه شاهد تفاوت معنی-داری نداشت. مقدار اسیدیته در دو نمونه عسل بیجار و همدان کاهش معنی‌داری نشان داده بود ولی سایر نمونه‌ها (مراغه، تکاب، زنجان) کاهش معنی‌داری نشان ندادند (Nemati *et al.*, 2011).

جدول ۲- پاسخ تیمارهای ارائه مطابق با طرح مکعب مرکزی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی نمونه‌های عسل

ترتیب تیمارها	ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی (میانگین± انحراف معیار)			
	اسیدیته (میلی اکی والان در کیلوگرم)	رطوبت (درصد)	pH	ساکارز (گرم درصد)
۱	۹/۲±۰/۲۶	۱۳/۶±۰/۰۰	۳/۸±۰/۰۲	۲/۵±۰/۱۷
۲	۷/۹±۰/۰۲	۱۳/۷±۰/۰۰	۳/۸±۰/۰۱	۲/۲±۰/۱۰
۳	۹/۸±۰/۰۱	۱۳/۰±۰/۰۰	۳/۷±۰/۰۳	۲/۱±۰/۰۲
۴	۱۱/0±۰/۹۹	۱۴/۲±۰/۰۱	۳/۸±۰/۰۲	۲/۲±۰/۲۲
۵	۱۰/۰±۰/۰۱	۱۴/۵±۰/۰۱	۳/۷±۰/۰۱	۲/۳±۰/۱۱
۶	۹/۹±۰/۰۵	۱۴/۰±۰/۰۰	۳/۷±۰/۰۱	۲/۹±۰/۰۷
۷	۱۰/۷±۰/۱۷	۱۴/۱±۰/۰۰	۳/۷±۰/۰۱	۲/۲±۰/۰۱
۸	۹/۰±۰/۰۰	۱۳/۳±۰/۰۲	۳/۸±۰/۰۱	۲/۳±۰/۲۹
۹	۱۱/۹±۰/۵۷	۱۴/۹±۰/۰۰	۳/۷±۰/۰۱	۲/۲±۰/۰۹
۱۰	۸/۹±۰/۲۲	۱۳/۵±۰/۰۱	۳/۷±۰/۰۱	۲/0±۰/۱۱
۱۱	۹/۱±۰/۱۶	۱۵/۱±۰/۰۰	۳/۸±۰/۰۰	۲/۳±۰/۰۷
۱۲	۱۱/۰±۰/۰۱	۱۳/۰±۰/۰۰	۳/۸±۰/۰۲	۲/۴±۰/۰۸
۱۳	۹/۳±۰/۷۸	۱۳/۷±۰/۰۱	۳/۹±۰/۰۲	۲/۴±۰/۲۵
۱۴	۸/۰±۰/۷۷	۱۳/۰±۰/۰۰	۳/۸±۰/۰۱	۲/۱±۰/۱۴

اثر فرآیند حرارتی بر روی مقدار پرولین

مقدار پرولین در نمونه اولیه ۰/۹ mg/kg ± ۲۳۰ بود. در بازه زمانی و دمایی مورد بررسی اثر خطی دما و زمان حرارت‌دهی و همچنین اثر مربع دما و اثر متقابل دما و زمان بر مقدار پرولین معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$) و افزایش دما و زمان سبب افزایش میزان کاهش پرولین شد. گرچه عدد F برای دما و زمان به ترتیب ۱۳۱/۵۲ و ۱۳/۴۳ بود که نشان می‌داد اثر دما بسیار مهم‌تر از اثر زمان است. اثر مربع زمان معنی‌دار نبود و به همین دلیل از معادله حذف و محاسبات آماری دوباره انجام شد. در نهایت نتایج نشان داد که کاهش پرولین در این بررسی از معادله زیر تبعیت می‌کند.

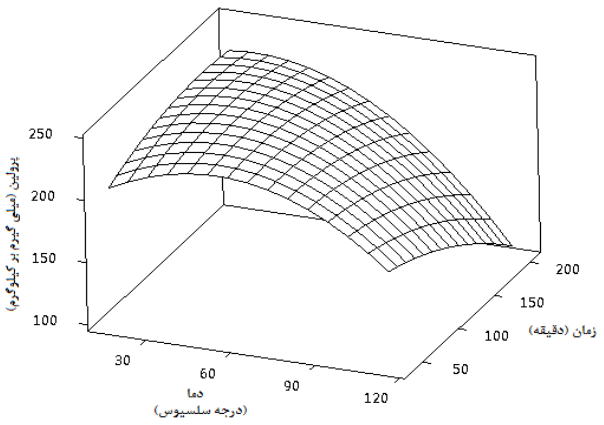
(رابطه ۲)

$$\text{مقدار پرولین} = ۱۸۴/۷ + ۱/۸x_1 + ۰/۲x_2 - ۰/۰۱۶x_1^2 - ۰/۰۰۵۴x1x2$$

مقدار R^2 در این معادله ۹۴درصد بود که نشان از کفایت مدل در تخمین اثر حرارت و دما (در بازه مورد بررسی) بر روی مقدار پرولین داشت. شکل ۱، اثر نمودار سطحی زمان و دما را بر روی مقدار پرولین نشان می‌دهد.

در دو تیمار شماره ۴ (۱۰۰ درجه سلسیوس، ۱۸۰ دقیقه) و تیمار شماره ۱۳ (۱۱۵ درجه سلسیوس و ۱۲۰ دقیقه)، مقدار پرولین از حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی (۱۸۰mg/kg) کمتر بود (جدول ۳). نتایج این بررسی تا حدی با نتایج سایر محققین مطابقت دارد. Czipa *et al.* (2012) گزارش نمودند، هنگامی که عسل حرارت داده می‌شود، مقدار پرولین آن کاهش می‌یابد و مقدار کاهش آن با افزایش دما و زمان حرارت دهی بیشتر می‌شود. آن‌ها حداکثر کاهش را دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس و در ۲۰ دقیقه و کمترین کاهش را در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به دست آوردند.

.



شکل ۱- بررسی اثر زمان و دمای حرارت دهی بر روی مقدار پرولین در عسل

اثر فرآیند حرارتی بر روی مقدار دیاستاز

مقدار دیاستاز در نمونه اولیه ۰/۵ ± ۱۷ گوته بود که با حد تعیین شده در استاندارد ملی (حداقل ۸ گوته) مطابقت داشت. نتایج آماری نشان داد در بازه زمانی و دمایی مورد بررسی اثر خطی دما و زمان حرارت دهی بر مقدار دیاستاز معنی‌دار بود و افزایش دما و زمان حرارت‌دهی سبب افزایش میزان کاهش دیاستاز شد ($p < ۰/۰۵$) گرچه اثر دما (در بازه مورد بررسی) مهم تر از اثر زمان بود و عدد F برای دما و زمان به ترتیب ۴۸/۱ و ۹/۵ بود. اما اثر متقابل آنها و اثر مربع آنها معنی‌دار نبود ($p > ۰/۰۵$) و به همین

دلیل از معادله حذف شدند. بر اساس محاسبات آماری، کاهش دیاستاز در این بررسی از معادله خطی زیر تبعیت می‌کند. (رابطه ۳)

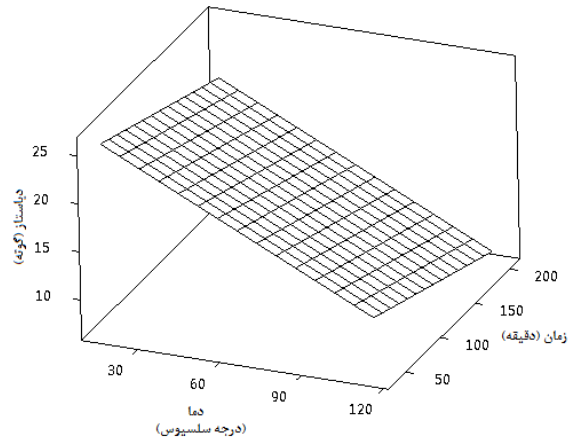
$$\text{دیاستاز} = ۲۱/۹۵-۰/۱۱۸x_1-۰/۰۳x_2$$

که در آن، x_1 و x_2 به ترتیب دما و زمان را نشان می‌دهد. مقدار R^2 در این معادله ۸۵/۳ درصد به دست آمد که نشان از کفایت مدل در تخمین اثر حرارت و دما (در بازه مورد بررسی) بر روی مقدار دیاستاز داشت. مقدار دیاستاز در اثر حرارت در ۳ تیمار شماره ۴، ۱۲ و ۱۳ از حداقل تعیین شده در استاندارد ملی (۸ گوته) کمتر بود (جدول ۳). شکل ۲، نمودار سطحی اثر زمان و دما را بر روی مقدار دیاستاز نشان می‌دهد.

جدول ۳- ماتریس پاسخ تیمارها مطابق با طرح مکعب مرکزی بر مقدار پرولین، دیاستاز و هیدروکسی متیل فورفورال در عسل

	ویژگی‌های عسل (میانگین ± انحراف معیار)		
ترتیب تیمارها	پرولین (میلی‌گرم در کیلوگرم)	دیاستاز (بر حسب گوته)	هیدروکسی متیل فورفورال (میلی‌گرم در کیلوگرم)
۱	۲۲۴/۱±۰/۵^{a}	۹/۰±۵/۲^{a}	۷/۰±۳/۱^{a}
۲	۲۰۱/۱±۰/۱^{b}	۹/۰±۰/۳^{a}	۲۳/۰±۵/۳^{b}
۳	۲۲۶/۲±۵/۵^{a}	۱۶/۰±۵/۵^{b}	۷/۰±۶/۱^{a}
۴	۱۵۵/۱±۰/۳^{c}	۶/۰±۸/۴^{c}	۱۳۶/۰±۰/۱^{c}
۵	۲۲۳/۲±۴/۲^{a}	۹/۰±۵/۳^{a}	۱۰/۰±۰/۶^{d}
۶	۲۲۵/۱±۸/۴^{a}	۱۶/۰±۰/۸^{b}	۸/۰±۲/۷^{a}
۷	۲۲۴/۲±۶/۲^{a}	۹/۰±۰/۴^{a}	۸/۰±۹/۱^{d}
۸	۲۲۳/۱±۳/۴^{a}	۱۰/۰±۲/۴^{a}	۶/۰±۹/۲^{a}
۹	۲۲۲/۰±۲/۸^{a}	۱۵/۰±۴/۲^{b}	۲۷۴/۱±۲/۲^{e}
۱۰	۲۳۰/۱±۵/۵^{a}	۱۶/۰±۵/۵^{b}	۶/۰±۹/۱^{a}
۱۱	۲۲۵/۱±۵/۸^{a}	۹/۰±۰/۴^{a}	۲۱/۰±۳/۱^{b}
۱۲	۲۰۵/۱±۶/۴^{b}	۷/۰±۲/۲^{c}	۷/۰±۷/۴^{a}
۱۳	۱۴۰/۲±۰/۴^{c}	۵/۰±۰/۵^{d}	۸/۰±۶/۱^{ad}
۱۴	۲۲۶/۱±۴/۶^{a}	۹/۰±۸/۳^{a}	۹/۰±۳/۶^{d}

^{abcde} حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار بین اعداد است ($p < ۰/۰۵$)



شکل ۲- بررسی اثر زمان و دمای حرارت دهی بر روی مقدار دیاستاز در عسل

در تحقیقی مشابه، حرارت دادن در دمای ۵۵ تا ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۵ تا ۲۵ دقیقه اثری بر روی مقدار دیاستاز نداشت اما نگهداری به مدت ۶ ماه، مقدار آن را بیش از ۵۰ درصد کاهش داد (Hasan, 2013). این نتایج را نمی‌توان مطابق و یا مخالف تحقیق حاضر دانست زیرا زمان حرارت‌دهی در دو تحقیق با یکدیگر متفاوت است. در این بررسی، حرارت ۶۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۰۰ دقیقه سبب کاهش دیاستاز شد، در حالی که در بررسی آنها زمان حرارت دهی حداکثر ۲۵ دقیقه بود. دو محقق دیگر در خصوص کاهش فعالیت دیاستاز، گزارش نمودند که به نظر می رسد زمان حرارت دادن نسبت به دما، اثر بیشتری بر کاهش این آنزیم دارد. به عنوان مثال حرارت ۵۰ درجه سلسیوس به مدت نیم ساعت حدود ۸ درصد و پس از یک ساعت، ۲۱ درصد آن را کاهش می‌دهد در حالیکه حرارات ۸۰ درجه سلسیوس در مدت نیم ساعت، ۱۵درصد آن را کاهش می‌دهد. پس از سه ساعت در دمای ۵۰ درجه سلسیوس تقریبا" ۵۰ درصد دیاستاز از بین می‌رود (Al-Diab & Jarkasm, 2015).

در یک بررسی، فعالیت دیاستاز با افزایش دمای حلال مورد استفاده برای رقیق کردن عسل کاهش یافت. گرچه، آنزیم در محدوده دما بین ۲۰ تا ۴۰ درجه سلسیوس پایدار بود، اما به محض اینکه دما به بیش از ۶۰ درجه سلسیوس رسید ، مهار شدید فعالیت آنزیم مشاهده شد (Wesolowska & Dzugan, 2017).

در یک مطالعه جامع در سال ۱۹۹۲، White استفاده از محتوای دیاستاز را به عنوان شاخصی برای تعیین کیفیت عسل

غیر قابل قبول دانسته و گزارش می‌کند که محتوای دیاستاز در ارزیابی کیفیت عسل و به ویژه اظهار نظر در مورد حرارت دهی بیش از حد به عسل، مناسب نبوده و مقدار هیدروکسی متیل فورفورال مناسب تر است (White, 1992).

اثر فرآیند حرارتی بر مقدار هیدروکسی متیل فورفورال

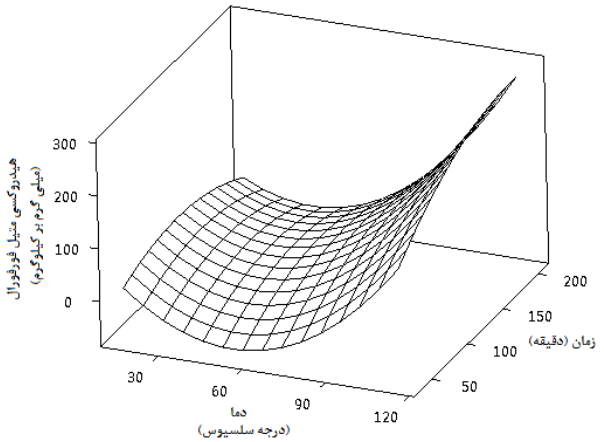
نتایج به دست آمده از اندازه گیری هیدروکسی متیل فورفورال در ۱۴ تیمار تعریف شده، در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. مقدار این ترکیب در تیمارها بین ۰/۲ ± ۶/۹ تا ۱/۲ ± ۲۷۴/۲ میلی‌گرم در کیلوگرم متغیر بود. تنها در تیمارهای شماره ۴ (دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس و زمان ۱۸۰ دقیقه) و شماره ۹ (دمای ۱۱۵ درجه سلسیوس و زمان ۱۲۰ دقیقه) مقدار HMF از حد مجاز تعیین شده در استاندارد ملی و استاندارد بین المللی کدکس (۴۰ میلی گرم در کیلوگرم) بیشتر بود. نتایج بررسی اثر خطی، توان دوم و اثر متقابل دو متغیر مستقل دما و زمان بر روی متغیر وابسته (مقدار HMF)، نشان داد که اثر خطی و توان دوم دما بروی مقدار این ترکیب معنی دار بود ($p < ۰/۰۵$)، اما اثر زمان (خطی و توان دوم) و همچنین اثر متقابل دما و زمان معنی-دار نبود و به همین دلیل از معادله حذف و محاسبات آماری پس از حذف اثر متقابل دما و زمان دوباره انجام شد. در نهایت معادله درجه دوم زیر برای نشان دادن ارتباط بین دما و مقدار HMF به دست آمد.

(رابطه ۴)

$$HMF = ۸۳/۷-۴/۲۸x_1-۰/۰۴۷x_1^2$$

که در آن، x_1 مقدار دما را برحسب درجه سلسیوس نشان می‌دهد.

مقدار R^2 در این معادله ۸۰/۷ درصد به دست آمد که نشان از کفایت نسبی مدل در تخمین اثر حرارت (در بازه مورد بررسی) بر روی مقدار HMF داشت. نمودار سطحی اثر دما بر مقدار این ترکیب در شکل ۴ نشان داده شده است. چنانکه در این شکل دیده می‌شود با افزایش دما، بیش از ۱۰۰ درجه سلسیوس، مقدار HMF افزایش می‌یابد، در حالکیه زمان اثر معنی‌داری ندارد. بنابراین در فرآیند حرارت‌دهی عسل، دما باید در کمتر از ۱۰۰ درجه سلسیوس نگه داشته شود تا مقدار این ترکیب از حد استاندارد بالاتر نرود. در تحقیق مشابهی در کشور ترکیه نشان داده شد که اگر عسل در دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ دقیقه حرارت داده شود، مقدار HMF آن از حد مجاز کدکس (۴۰ میلی گرم در کیلوگرم) بالاتر نخواهد رفت (Turhana *et al.*, 2008). نتایج این بررسی با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. برعکس در مطالعه دیگری، Mihaly Cozmuta *et al.* نشان دادند که در طی فرآیند حرارت‌دهی، اثر هر دو متغیر زمان و دما بر افزایش مقدار HMF معنی‌دار است. آنها گزارش نمودند که اگر عسل در ۵۰ درجه سلسیوس حرارت داده شود، در ۳۰ دقیقه نخست مقدار HMF هیچ تغییری نمی‌کند اما بعد از ۳ ساعت مقدار آن حدود ۴۷/۲ درصد افزایش می‌یابد. علاوه بر آن، بیشترین مقدار HMF در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس و در مدت ۱ تا ۵ ساعت حرارت دهی به وجود می‌آید (Mihaly Cozmuta *et al.*, 2011).



شکل ۳- بررسی اثر زمان و دمای حرارت دهی بر روی مقدار هیدروکسی متیل فورفورال در عسل

اثر فرآیند حرارتی بر روی رنگ عسل

نتایج به دست آمده از اندازه‌گیری رنگ عسل با دستگاه لاویباند پس از اعمال فرآیند حرارتی، با سه شاخص رنگ قرمز، آبی و زرد در جدول شماره ۴ نشان داده شده است. بررسی آماری نشان داد اثر خطی زمان و دما بر روی رنگ قرمز معنی‌دار بود، اما اثر توان دوم آن و هم‌چنین اثر متقابل دما و زمان معنی‌دار نبود. اثر دما مهم‌تر از اثر زمان بود و عدد F برای آنها به ترتیب ۲۵/۶۷ و ۱۳/۸بود. حداقل مقدار رنگ قرمز در تیمار شماره ۱۰ (دما ۱۵/۵ و زمان ۱۲۰ دقیقه) و حداکثر آن در تیمار شماره ۱۳ (دما ۱۱۵/۵ و زمان ۱۲۰ دقیقه) مشاهده شد که به ترتیب عبارت از ۰/۰۶ ± ۱ و ۰/۴۰ ± ۷/۲ بود (جدول ۴). به طور کلی نمونه‌هایی که تیمار حرارتی آنها در دمای ۱۵ تا ۳۰ انجام شده بود (تیمارهای شماره ۳، ۶ و ۱۰)، شاخص رنگ قرمز در آنها نسبت به سایر تیمارها کمتر بود ($p < ۰/۰۵$). تغییرات شاخص رنگ قرمز در این بررسی از معادله زیر تبعیت می‌کرد.

(رابطه ۵)

$$\text{شاخص رنگ قرمز} = ۰/۴۶۰ + ۰/۰۴۱۴\ X_1 + ۰/۰۱۳۶\ X_2$$

مقدار R^2، در این معادله ۷۷/۲۵ بود که نشان می داد مدل در تعیین اثر حرارت بر روی رنگ قرمز، از کفایت مطلوبی برخوردار نیست.

شاخص رنگ آبی نیز پس از فرآیندهای حرارتی تفاوت معنی‌داری در نمونه‌ها نشان‌داد و مقدار آن از حداقل ۰/۰۶ ± ۰/۱ (در تیمار شماره ۱۰) تا ۰/۴۰ ± ۵/۸ در تیمار شماره ۱۳ (دمای ۱۱۵ درجه سلسیوس و زمان ۱۲۰ دقیقه) متغیر بود که احتمالاً تیرگی این عسل نسبت به سایر نمونه‌ها نیز به همین دلیل است (شکل ۱).

در مورد رنگ آبی اثر خطی دما معنی‌دار بود ($p < ۰/۰۵$). عدد F برای دما ۱۰۷/۴ بود. به همین دلیل زمان از معادله حذف و محاسبات آماری دوباره انجام شد. در نهایت به صورت زیر درآمد: (رابطه ۶)

شاخص رنگ آبی = -۱/۹۲ + ۰/۰۵ X_1

مقدار R^2 در این معادله ۹۲ درصد بود که نشان دهنده کفایت مدل در تعیین اثر حرارت بر شاخص رنگ آبی عسل بود.

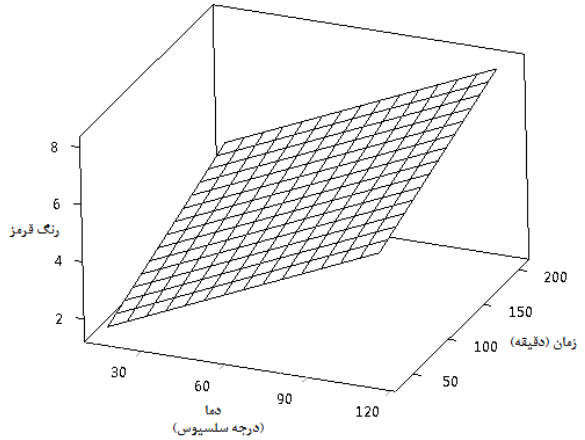
مقدار رنگ زرد تقریبا در تمام نمونه‌ها مشابه بود به استثناء تیمار شماره ۱۳، که حداقل مقدار رنگ زرد در آن مشاهده شد (۵/۴ ± ۰/۵۵).

جدول ۴- اثر فرآیند حرارتی بر روی رنگ نمونه‌های عسل بر اساس سه شاخص قرمز، زرد و آبی پس از اندازه گیری با دستگاه لاویباند

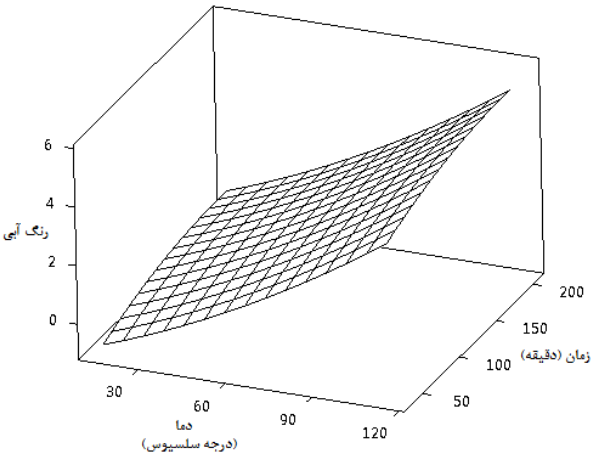
	شاخص رنگ عسل (**میانگین± انحراف معیار**)		
ترتیب تیمارها	رنگ قرمز	رنگ آبی	رنگ زرد
۱	۴/۰±۹/۱۵^{a}	۲/۰±۲/۰۶^{a}	۷/۰±۸/۲۶^{a}
۲	۴/۰±۸/۴۰^{a}	۲/۰±۹/۳۶^{b}	۸/۰±۷/۹۷^{a}
۳	۲/۰±۷/۵۸^{b}	۰/۰±۱/۱۰^{c}	۷/۰±۸/۱۷^{a}
۴	۶/۰±۰/۵۰^{c}	۳/۰±۴/۵۸^{b}	۷/۰±۹/۵۸^{a}
۵	۵/۰±۱/۰۶^{a}	۲/۰±۰/۰۰^{b}	۷/۰±۸/۲۰^{a}
۶	۵/۰±۳/۵۵^{a}	۰/۰±۱/۰۶^{c}	۷/۰±۷/۵۸^{a}
۷	۵/۰±۱/۰۰^{a}	2۲/۰±0/۰۰^{a}	۷/۰±۹/۹۵^{a}
۸	۴/۰±۹/۰۶^{a}	۲/۰±۱/۰۶^{a}	۷/۰±۸/۰۶^{a}
۹	۴/۰±۰/۹۸^{a}	۱/۰±۴/۵۱^{d}	۸/۰±۱/۹۶^{a}
۱۰	۱/۰±۰/۰۶^{d}	۰/۰±۱/۰۶^{c}	۶/۰±۱/۰۶^{b}
۱۱	۵/۰±۰/۰۶^{a}	۲/۰±۰/۰۶^{a}	۷/۰±۹/۱۷^{a}
۱۲	۵/۰±۹/۱۲^{c}	۳/۰±۱/۰۶^{b}	۷/۰±۹/۱۰^{a}
۱۳	۷/۰±۲/۴۰^{c}	۵/۰±۸/۴۰^{d}	۵/۰±۴/۵۵^{b}
۱۴	۵/۰±۰/۰۶^{a}	۲/۰±۱/۱۰^{a}	۷/۰±۹/۱۲^{a}

^{abcd} حروف غیر یکسان در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی دار است ($p < ۰/۰۵$)

نمودار سطحی اثر زمان و دمای حرارت‌دهی بر روی رنگ قرمز و آبی در شکل‌های شماره ۳ و ۴ دیده می‌شود. به طور کلی با افزایش دما مقدار رنگ‌های آبی و قرمز افزایش می‌یابد و روشنی رنگ عسل تا حدی از بین می‌رود. در طی آزمون نیز با مشاهده چشمی معلوم شد که هرچه فرآیند حرارتی شدیدتر باشد، رنگ عسل حاصله تیره‌تر است.



شکل ۴- بررسی اثر زمان و دمای حرارت دهی بر روی رنگ قرمز در عسل



شکل ۵- بررسی اثر زمان و دمای حرارت دهی بر روی رنگ آبی در عسل

تا کنون تعداد کمی از پیگمان‌های مولد رنگ در عسل شناسایی شده‌اند. پیگمان‌های مشخص شده بیشتر از نوع کاروتن‌ها، گزانتوفیل‌ها و پلی فنول‌ها (فلاونول‌ها) هستند. رنگ زرد کهربایی عسل بیشتر به دلیل ترکیبات فنولی و مواد حاصل از واکنش قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی بین آمینواسیدها و فروکتوز می‌باشد (Dominguez & Centurion, 2015). به نظر می‌رسد تیرگی رنگ که در اثر حرارت ایجاد شده است، مربوط به واکنش میلارد و کاراملیزاسیون است (Bertoncelj *et al.*, 2007).

به طورکلی با توجه به این که منبع تغذیه زنبور (نوع گل)، در رنگ نهایی فرآورده موثر است، اظهار نظر در مورد آن کار پیچیده‌ای است و به عبارتی نمی‌توان با قطعیت اظهار نظر نمود که تیرگی رنگ عسل (به ویژه عسل چهل گیاه) در اثر شرایط نامناسب نگهداری و فرآیند حرارتی نامناسب ایجاد شده و یا اینکه مربوط به نوع گل‌های مورد استفاده توسط زنبور است. به نظر می رسد ارزیابی رنگ را بیشتر در تعیین کیفیت عسل‌های تک گل می‌توان به کار برد. در استانداردهای ملی و بین المللی موجود در مورد عسل، هیچ اشاره‌ای به آزمون رنگ، در تعیین کیفیت عسل،

نشده است. احتمالا این موضوع به دلیل تنوع بسیار زیاد رنگ در انواع عسل‌ها می‌باشد. در حالیکه فاکتور رنگ در ارزیابی کیفیت عسل اهمیت زیادی دارد و با توجه به سادگی انجام آزمون آن احتمالا می‌تواند به جای آزمون‌های پیچیده‌تر مانند اندازه‌گیری هیدروکسی متیل فورفورال (که مربوط است به فرآیند حرارتی نامناسب و یا انبارداری طولانی مدت) انجام گیرد. پیشنهاد می‌گردد سازمان‌های قانون‌گذار از جمله سازمان ملی استاندارد و اداره کل نظارت بر غذا و دارو روش مناسبی برای اندازه گیری مقدار رنگ عسل تعیین و ارائه نمایند.

بهینه سازی فرآیند حرارتی

در نهایت بهینه سازی فرآیند حرارتی با استفاده از نرم افزار minitab، به نحوی انجام شد که در آن مقدار HMF و دو شاخص رنگ قرمز و آبی در حداقل و مقدار دیاستاز و پرولین حداکثر باشد. نتایج نشان داد که بهترین شرایط، دمای حداکثر ۵۰ درجه سلسیوس و زمان حداکثر ۱۲۰ دقیقه است. از روی نرم افزار مقادیر دیاستاز، HMF، پرولین و رنگ‌های آبی و قرمز به دست آمد (جدول ۴). سپس به منظور حصول اطمینان از درستی نتایج آماری به دست آمده، سه نمونه عسل در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و زمان ۱۲۰ درجه سلسیوس حرارت داده شده و مجددا مقدار پرولین، دیاستاز، HMF و شاخص رنگ (قرمز و آبی) در آنها اندازه گیری شد (جدول ۵). نتایج نشان داد تفاوت معنی داری بین مقادیر پیش بینی شده توسط نرم افزار و مقادیر به دست آمده از آزمایش وجود نداشت.

جدول۵- بررسی اثر فرآیند حرارتی در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و زمان ۱۲۰ دقیقه بر روی مقدار پرولین، دیاستاز و شاخص رنگهای آبی و قرمز و مقایسه آن با مقدار پیش بینی شده توسط نرم افزارminitab

مقادیر به دست آمده از آزمایش (n=۳)، (میانگین±انحراف استاندارد)					مقادیر پیش بینی شده توسط نرم افزار				
رنگ قرمز	رنگ آبی	HMF (mg/kg)	دیاستاز (گوته)	پرولین (mg/kg)	رنگ قرمز	رنگ آبی	HMF (mg/kg)	دیاستاز (گوته)	پرولین (mg/kg)
۴/۰±۱/۸۰	۱/۴ ۰±/۰۶	۱۰/۱±۲/۲	۱۲/۰±۵/۵	۱±۲۲۶/۷	۴/۰	۱/۲۸	۹/۵	۱۲/۷	۲۳۰

نتیجه گیری

فرآیند حرارتی که در کارخانجات بسته بندی عسل انجام می‌شود (در بازه زمان و دمای مورد بررسی در این تحقیق)، اثری بر ویژگی‌های اسیدیته، بریکس، رطوبت، pH و ساکارز آن ندارد اما هر دو این عوامل (زمان و دما) سبب کاهش مقدار پرولین و دیاستاز شده و سبب تیره تر شدن رنگ عسل می‌شوند. افزایش دما همچنین منجر به افزایش مقدار HMF می‌شود. از این نتایج چنین استنباط می‌گردد که تیره بودن رنگ عسل (که گاهاً دلیل بر بهتر بودن کیفیت آن تلقی می‌گردد)، ممکن است در اثر فرآیند حرارتی نامناسب به وجود آمده باشد و نمی‌تواند به عنوان یک فاکتور مثبت در ارزیابی عسل لحاظ گردد (برخلاف تصور عامه). البته این موضوع به این مفهوم نیست که روشن بودن رنگ عسل دلیلی بر کیفیت مناسب تر آن است.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از پژوهشگاه استاندارد به دلیل تامین مالی پروژه، در اختیار قرار دادن آزمایشگاه و تامین امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی و همچنین دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهواز تشکر می‌کنند.

REFERENCES

Al-Diab, D., & Jarkasm, b., (2015). Effect of storage and thermal treatment on the quality of some local brands of honey from Latakia markets. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 3(3), 328-334.

Belitz, H.D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). Food chemistry. 4th rev. and extended ed. Berlin, Springer, pp 883-890.

Bertoncelj, J., Dobersek, U., Jamnik, M., & Golob, T. (2007). Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105, 822–828.

Bilandzic, N., Dokic, M., Sedak, M., Solomun, K.B., Varenina, I., Koncurat, A., & Rudan, N. (2011). Determination of trace elements in croatian floral honey originating from different regions. *Food Chemistry*, 128, 1160–1164.

Blasa, M., Candiracci, M., Accorsi, A., Piacentini, M.P., Albertini, M.C. & Piatt, E. (2006). Raw millefiorihoney is packed full of antioxidants. *Food Chemistry*, 97, 217–222.

Bogdanov, S., Jurendic, T., & Sieber, R. (2008). Honey for nutrition and health: A review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27, 677–689.

Broadhurst, G.L. (2000). Health and healing with bee products. First puplished in 2000 by alive books, PP, 32-39.

Czipa, N., Borbély, M., & Győri, Z. (2012). Proline content of different honey types, *Acta Alimentaria*, 41 (1), 26–32.

Codex, T.F., Turkish Food Codex, Honey Notification

(2012). T.C. Ministry of Agriculture and Rural Affairs (no: 2012/58) 2012.

DIN 10751-3, Determination of hydroxymethylfurfural content of honey by high Performance liquid Chromatography 2002.

Dominguez, M.A., & Centurion, M.E. (2015). Application of digital images to determine color in honey samples from Argentina. *Microchemical Journal*, 118, 110-114.

Downey, G., Hussey, K., Kelly, J.D., Walshe, T.F., & Martin, P.G. (2005). Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. *Food Chemistry*, 91, 347–354.

Finola, M.S., Lasagno, M.C., & Marioli, M.J. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food Chemistry*, 100, 1649–1653.

Hasan, S.H. (2013). Effect of Storage and Processing Temperatures on Honey Quality. *Journal of Babylon University/Pure and Applied Sciences*, 6(21), 2244-2253.

ISIRI, (2013). Institute of Standards and Industrial Research of Iran, Honey- Specification and test methods. ISIRI. No 92. 7th revision.

Kongkaew, A., Usansa, U., & Wanapu, C. (2012). Optimisation of wort production from rice malt using enzymes and barley malt. *African Journal of Biotechnology*, 11, 9941-9949.

Kivrak, S., Kivrak I. & Karababa, E. (2017). Characterization of Turkish honeys regarding of physicochemical properties, and their adulteration analysis. *Food Science and Technology (Campinas)*, 37(1), 80-89.

Mihaly Cozmuta, A., Mihaly Cozmuta, L., Varga, C., Marian, M. & Peter, A (2011). Effect of thermal processing on quality of polyfloral honey. *Romanian Journal of Food Science*, 1(1), 45–52.

Moniruzzaman, M., Sulaiman S.A., Mohd Azlan, S.A., & Gan. S.H. (2013). Two-year variations of phenolics, flavonoids and antioxidant contents in acacia honey. *Molecules*, 18, 14694-14710.

Nemati, F., Honarvar, M., Taghavizad, R., Ezzatpanah, H., Seif hashemi, S., & Hemaci, A.H. (2011). The effect of honey processing on the proline content. *Food Technology and Nutrition*, 8, 57-65.

Ouchemoukh, S., & Louaileche, H. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys, *Food Control*, 18: 52-58.

Sakac, M.B., Jovanov, P.T., Marić, A.Z., Pezo, L.L., Kevrešan, Ž.S., Novaković, A.R. Nedeljkovic, N.M. (2019). Physicochemical properties and mineral content of honey samples from Vojvodina (Republic of Serbia), *Food Chemistry*, 276, 15-21.

Sato, T., & Miyata, G. (2000). The nutraceutical benefit, part iii: honey. *Nutrition*,16, 468-9.

Sai-Nan, S., Hua-Li, N., Li-Min, Z. & Tian-Xiang, C. (2009). Optimization of adsorption conditions of papain on dye affinity membrane using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 100, 2336– 2340.

Turhana I, Tetika N, Karhana M, Gurelb F. & Tavukcuoglu H.R. (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. *Elsevier LWT*, 41, 1396–1399.

Wesolowska, M. & Dzugan, M. (2017). The Use of the Photochem Device in Evaluation of Antioxidant Activity of Polish Honey, *Food Analytical Methods*, 10(5), 1568–1574.

White, J.W. (1992). Quality evaluation of honey: Role of HMF and diastase assays in honey quality evaluation. *American Bee Journal* 132(11/12), 737-742, 792-794.