

## بهینه‌سازی فرآوری حرارتی عسل با استفاده از ارزیابی خصوصیات فیزیکی شیمیایی و محتوای هیدروکسی متیل فورفورال

سپیدار سیدی منصور<sup>۱</sup>، لیلا روفه‌گری نژاد<sup>۲\*</sup>

۱. کارشناسی‌ارشد علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

۲. استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران

\* نویسنده مسئول مکاتبات: I.roufegari@iaut.ac.ir

(دریافت مقاله: ۹۴/۹/۱۳ پذیرش نهایی: ۹۶/۶/۲۹)

### چکیده

هیدروکسی متیل فورفورال (HMF) یکی از ترکیبات تشکیل شده در نتیجه فرآیند حرارتی و نگهداری عسل بوده و طبق استاندارد کدکس حداکثر مجاز آن در عسل ۴۰ ppm تعیین شده است. در این تحقیق، تأثیر دمای حرارت‌دهی (۵۵، ۶۵ و ۷۵ درجه سلسیوس)، زمان حرارت‌دهی (۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه) و همچنین دمای مختلف نگهداری (۲۵ و ۴۰ درجه سلسیوس) طی سه ماه بر مبنای روش سطح پاسخ مورد بررسی قرار گرفت. تأثیر متغیرهای ذکر شده بر روی خصوصیات فیزیکی شیمیایی (فاکتورهای رنگی Lab، pH و رطوبت) و محتوای HMF (طیف‌سنجی با اسپکتروفتومتر) در نمونه‌های عسل تیمار شده مطالعه و مدل‌های پیش‌بینی برای هر یک محاسبه گردید و نتایج یافته‌ها در زمان‌های ۴۵ و ۹۰ روز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد دما و زمان فرآیند حرارتی و نگهداری روی pH، رطوبت و رنگ تأثیرگذار نبودند در حالی که دمای نگهداری تأثیر خود را بر روی شاخص L و a نشان داد. محتوای HMF تحت تأثیر تمام متغیرهای مورد بررسی قرار گرفت به نحوی که میزان آن به‌طور معنی‌داری با افزایش فرآیند حرارتی و نگهداری بیشتر گردید. در بین نمونه‌های مورد بررسی میزان HMF در نمونه حرارت دیده در دمای ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه و نگهداری در دمای ۴۰ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ روز بیشتر از حد مجاز به دست آمد. میزان بهینه HMF تحت شرایط عملیاتی حرارت‌دهی در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه و نگهداری تحت دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ روز نتیجه گردید.

**واژه‌های کلیدی:** روش سطح پاسخ، شرایط نگهداری، فرآیند حرارتی، عسل، هیدروکسی متیل فورفورال

## مقدمه

عسل مایعی است شیرین، غلیظ و چسبناک که توسط زنبور عسل از نوش‌جاهای گیاهان جمع‌آوری و به‌عنوان غذا ذخیره می‌شود. عسل مخلوطی از آب، قندها (گلوکز، فروکتوز، ساکارز و مالتوز)، اسید گلوکونیک، لاکتون، ترکیبات نیتروژنی، مواد معدنی (از جمله نمک‌های کلسیم، منیزیم، سدیم، پتاسیم، آهن، فسفر، گوگرد و ید) و برخی ویتامین‌ها می‌باشد. این ترکیبات همراه با حضور برخی از آنزیم‌ها و ترکیبات پلی فنلی باعث شده است که عسل یک ماده غذایی مفید و اکسیر پرارزش به‌حساب آمده و در طب سنتی از ویژگی‌های درمانی آن از قبیل ترمیم‌کنندگی، ضد میکروبی و ضدآلتهایی استفاده گردد؛ هم‌چنین در سال‌های اخیر نقش آنتی‌اکسیدانی و پروبیوتیکی عسل مورد توجه محققان قرار گرفته است (Jahed Khaniki and Kamkar, 2005; Saadatmand, 2006). به‌رغم خواص درمانی و سلامت‌بخش عسل، نگهداری و شرایط فرآوری نامناسب منجر به تشکیل برخی ترکیبات نامطلوب تغذیه‌ای در این فرآورده با ارزش می‌گردد. در بین آلایندگی‌های متعدد مطرح شده طی سالیان اخیر، وجود هیدروکسی متیل فورفورال (Hydroxy Methyl Furfural: HMF) در عسل به‌عنوان یک عامل سرطان‌زا مورد توجه قرار گرفته است (Abraham et al., 2011). HMF ترکیبی فورانیک است که به‌عنوان یک واسطه از طریق واکنش میلارد و به‌وسیله آب‌گیری مستقیم شکر تحت تیمار حرارتی و شرایط اسیدی تشکیل می‌گردد (Turhan et al., 2008). دو مسیر متابولیکی متفاوت برای هیدروکسی متیل فورفورال شناسایی شده است اولین مسیر اکسیداسیون گروه آلدئید به ۵-هیدروکسی

متیل ۲-فرورایک اسید (HMFA) و سپس اتصال این ترکیب با گلیسین و تشکیل ۵-هیدروکسی متیل ۲ فرورایل گلیسین (HMFG) می‌باشد. در مسیر دیگر که از نظر سمیت با اهمیت‌تر از قبلی می‌باشد، گروه هیدروکسی آلایل HMF سولفات شده و ۵-سولفوکسی متیل فورفورال (SMF) تشکیل می‌گردد (Janzowski et al., 2000). تحقیقات نشان داده است که SMF یک ترکیب ژنوتوکسیک بوده و باعث جهش ژنی می‌گردد (Abraham et al., 2011; Durling et al., 2009).

در خصوص سرطان‌زا بودن HMF یافته‌های متناقضی توسط محققان بیان شده است. در تحقیقی، تفاوت‌های معنی‌داری بین موش‌های تغذیه‌کننده با مقادیر ۴۰ و ۸۰ میلی‌گرم HMF به ازای کیلوگرم وزن بدن را طی ۱۱ ماه مشاهده نمودند؛ در صورتی‌که در موش‌های دریافت‌کننده ۱۶۰ میلی‌گرم، تغییرات مشخصی رؤیت شد (Zhang et al., 1993). در مطالعه ۳ ماهه‌ای که تحت عنوان پروژه بررسی سمیت در ایالات متحده صورت گرفت در دریافت‌کنندگان دوزهای پایین‌تر از ۹۴ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن اثرات نامطلوبی مشاهده نشد اما تغییرات کاهش وزن و بافت کلیه در دریافت‌کنندگان مقادیر بالاتر رویت شد. با توجه به این یافته‌ها مقدار ۱۰۰-۸۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن حداکثر میزان دریافت روزانه HMF است که عوارض جانبی در پی ندارد (Abraham et al., 2011). در خصوص اندام‌های هدف، بررسی‌ها نشان داده است که کلیه، مثانه و کبد در مقایسه با سایر بافت‌ها بیشتر در معرض اثرات سوء HMF قرار دارند (Lee et al., 1995; Pryor et al., 2006).

زمان نگهداری) روی محتوای HMF و برخی خصوصیات فیزیکی شیمیایی (رنگ، pH و بریکس) عسل با هدف تعیین شرایط بهینه فرآوری و نگهداری، بررسی گردید.

### مواد و روش‌ها

#### - تهیه نمونه‌های عسل

نمونه‌های عسل (با رطوبت ۱۴ درصد، pH برابر با ۳/۸، گلوکز ۳۰ درصد، فروکتوز ۴۰ درصد و HMF برابر با صفر) از یکی از کارخانجات بسته‌بندی عسل واقع در آذربایجان شرقی تهیه شد و مطابق با جدول (۱) مورد عملیات حرارتی و نگهداری قرار گرفت.

با توجه به نتایج بررسی‌های سم‌شناسی، مقدار HMF به‌عنوان شاخص کیفیت عسل و برخی دیگر از مواد غذایی مطرح و طبق استانداردهای جهانی و ملی حداکثر غلظت مجاز آن در عسل ۴۰ میلی‌گرم در کیلوگرم تعیین شده است (ISIRI, 92/2013). تأثیر فاکتورهای متعدد من‌جمله فرآیند حرارتی، ترکیب قندهای موجود، فعالیت آبی عسل، فعالیت آنزیم اینورتاز و دیاستاز، غلظت کاتیون‌های دوقطبی، اسیدیته و pH بر میزان HMF بررسی گردیده است (Fallico *et al.*, 2004; Ajlouniet *al.*, 2010). اما جهت دستیابی به شرایط بهینه تولید و نگهداری، نیاز است اثرات مداخله‌ای این عوامل مورد بررسی قرار گیرد و مدل‌های پارامترهای مورد بررسی پیش‌بینی گردد. بنابراین در این مطالعه، تأثیر شرایط فرآیند (دما و زمان حرارت‌دهی و

جدول (۱) - طرح مرکب مرکزی (دراگه شده توسط نرم‌افزار Minitab 16)

شماره تیمار	بلوک	دمای فرآیند حرارتی (°C)	زمان فرآیند حرارتی (دقیقه)	دمای نگهداری (°C)
۱	۱	۶۵	۲۰	۲۵
۲	۱	۵۵	۳۰	۲۵
۳	۱	۵۵	۱۰	۲۵
۴	۱	۷۵	۱۰	۲۵
۵	۱	۶۵	۲۰	۲۵
۶	۱	۶۵	۲۰	۲۵
۷	۱	۷۵	۳۰	۲۵
۸	۲	۶۵	۲۰	۴۰
۹	۲	۶۵	۳۰	۴۰

ادامه جدول (۱) - طرح مرکب مرکزی (دراگه شده توسط نرم‌افزار Minitab 16)

شماره تیمار	بلوک	دمای فرآیند حرارتی (°C)	زمان فرآیند حرارتی (دقیقه)	دمای نگهداری (°C)
۱۰	۲	۶۵	۲۰	۴۰
۱۱	۲	۶۵	۱۰	۴۰
۱۲	۲	۵۵	۲۰	۴۰
۱۳	۲	۷۵	۲۰	۴۰
۱۴	۲	۶۵	۲۰	۴۰

تغییرات رنگ نسبت به رنگ شاهد) به صورت زیر محاسبه شد:

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2}$$

اندازه‌گیری pH و رطوبت به ترتیب توسط دستگاه pH متر (Mettler Toledo, Swiss) و رفرکتومتر (Atago, Japan) انجام شد (ISIRI, 92/2013).

- تعیین محتوای هیدروکسی متیل فورفورال برای تعیین محتوای هیدروکسی متیل فورفورال از روش طیف‌سنجی توسط اسپکتروفتومتر (Apel, Japan) تحت طول موج ۲۸۴ و ۳۳۶ نانومتر استفاده شد (ISIRI, 92/2013) و جهت جلوگیری از تداخل اثر جذب سایر ترکیبات در این طول موج، اختلاف جذب محلول شفاف عسل با افزودن بی‌سولفیت (Merck, Germany) و بدون آن تعیین گردید. ضریب رقت (W) یادداشت و میزان HMF از رابطه زیر به دست آمد:

$$HMF = (A_{284} - A_{336}) \times 149/7 \times 5 \times D/W$$

در رابطه فوق، D ضریب رقت (حجم محلول نهایی تقسیم بر ده) و W با وزن نمونه (گرم) است.

آماده‌سازی نمونه‌های عسل مطابق با طرح آزمایش مندرج در جدول (۱) انجام شد. تیمارها با سه تکرار تهیه گردیدند. بدین منظور نمونه‌های عسل در شیشه‌های مخصوص عسل ریخته شده و برای بررسی تأثیر دما و زمان حرارت‌دهی، عملیات حرارتی با حرارت‌دهی غیرمستقیم توسط حمام آب‌گرم در دماهای ۵۵، ۶۵ و ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه اعمال گردید. دمای مناسب برای بررسی شرایط نگهداری با نگهداری تیمارها در دمای محیط (۲۵ درجه سلسیوس) و آون آزمایشگاهی (۴۰ درجه سلسیوس) فراهم گردید. طول زمان بررسی ۹۰ روز بود که آزمون‌ها در فواصل ۴۵ روزه (روز صفر، ۴۵ و ۹۰) و با سه تکرار انجام گرفت.

#### - ارزیابی خصوصیات فیزیکی شیمیایی

مقایسه رنگ نمونه‌های عسل با استفاده از روش پردازش تصویر انجام گرفت (Yam and Papadakis, 2004). پس از عکس‌برداری (Canon, Japan) تحت شرایط مشخص، فاکتورهای L, a و b در ۵ نقطه از نمونه توسط نرم‌افزار فتوشاپ تعیین و  $\Delta E$  (میزان

## - تجزیه و تحلیل آماری

تحقیق دامنه تغییرات فاکتورها برای متغیرهای مستقل (جدول ۲ و ۳) تعیین شد و سپس تأثیر مستقل فاکتورها و اثرات متقابل آنها براساس سطح احتمال ۹۵٪ ارزیابی گردید.

بررسی اثرات مستقل و متقابل دماها و زمان‌های مختلف حرارت‌دهی و همچنین دماها و زمان‌های مختلف نگهداری با استفاده از نرم‌افزار Minitab16 روش سطح پاسخ (RSM) مورد بررسی قرار گرفت. در این طرح ابتدا براساس آزمایشات مقدماتی و پیشینه

جدول (۲) - نمایش متغیرهای مستقل فرآیند

متغیرهای مستقل	نماد ریاضی	کد و سطح مربوطه		
		-۱	۰	۱
دمای فرآیند حرارتی (درجه سلسیوس)	$X_1$	۵۵	۶۵	۷۵
زمان فرآیند حرارتی (دقیقه)	$X_2$	۱۰	۲۰	۳۰

جدول (۳) - نمایش متغیرهای مستقل فرآیند

متغیر مستقل	نماد ریاضی	بلوک	
دمای نگهداری	$X_0$	۱	۲

## یافته‌ها

- اثرات دما و زمان نگهداری روی خواص فیزیکوشیمیایی

مورد شاخص  $a^*$  نمونه‌های عسل مشاهده شد. اما روی شاخص  $b^*$ ، تأثیر هیچ‌کدام از متغیرها معنی‌دار نبود. میزان pH نمونه‌های عسل در مدت نگهداری ۴۵ و ۹۰ روز به ترتیب در محدوده ۳/۷-۳/۸۲ و ۳/۶۵-۳/۸۱ بود. از بین متغیرهای تأثیرگذار، هیچ‌کدام بر مقدار pH اثر معنی‌داری نداشتند. در مورد رطوبت، اثر دما و زمان‌های مختلف فرآیند حرارتی و دمای نگهداری بر مقادیر رطوبت نیز تأثیر معنی‌داری نداشت. رطوبت نمونه‌های عسل در مدت نگهداری ۴۵ و ۹۰ روز به ترتیب در محدوده ۱۴/۲-۱۵/۶ و ۱۴/۵-۱۵/۶ بود. لازم به ذکر است نمونه‌ها در ظروف در بسته و در درجه حرارت نگهداری کم (۲۵-۴۰ درجه سلسیوس) نگهداری شدند که عدم تغییر در محتوای رطوبت با

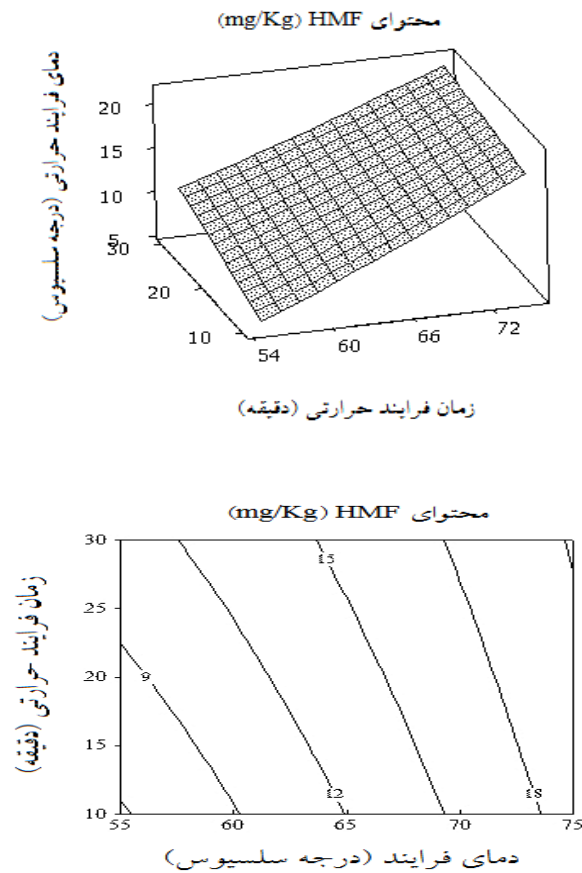
نتایج نشان داد پارامتر روشنایی ( $L^*$ ) در مدت نگهداری ۴۵ و ۹۰ روز به ترتیب در محدوده ۸۱/۳۸-۶۵/۵۷ و ۶۵/۵۷-۷۷/۷۵ و  $a^*$  (سبزی تا قرمزی) بین ۵/۷۱- تا ۱۴/۸۲- و ۱۱/۶۳- تا ۱۵/۸۵- در تغییر بوده است. این در حالی است که میزان تغییرات  $b^*$  (آبی تا زردی) وسیع‌تر بوده و به ترتیب ۱۷/۲۵-۳۶/۵۳ و ۱۷/۱۲-۳۶/۵۳ به دست آمد. از بین متغیرهای تأثیرگذار بر شاخص  $L^*$ ، فقط دمای نگهداری توانست تأثیر معنی‌داری ( $P < 0/05$ ) ایجاد نماید. نتایج مشابهی نیز در

فرآیند حرارتی و در مورد نمونه‌های نگهداری شده طی ۹۰ روز، بیشترین اثر مربوط به دمای نگهداری بود. اثرات متقابل متغیرها در هر دو بازه زمانی مورد بررسی از نظر آماری معنی‌دار نبودند. شکل (۱) و (۲) نمودارهای دوبعدی و سه‌بعدی زمان و دمای فرآیند حرارتی را روی محتوای HMF به ترتیب برای دوره نگهداری ۴۵ و ۹۰ روز نشان می‌دهد. مدل‌های پیش‌بینی شده برای محتوای HMF در جدول (۴) و مقادیر به دست آمده برای این ترکیب در جدول (۵) بیان شده است.

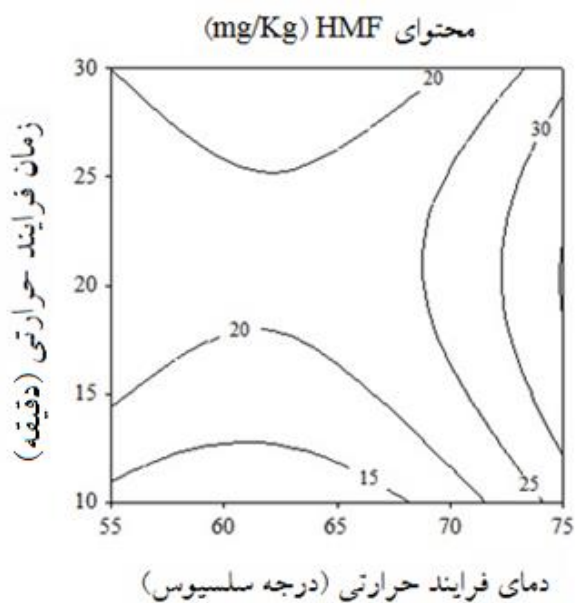
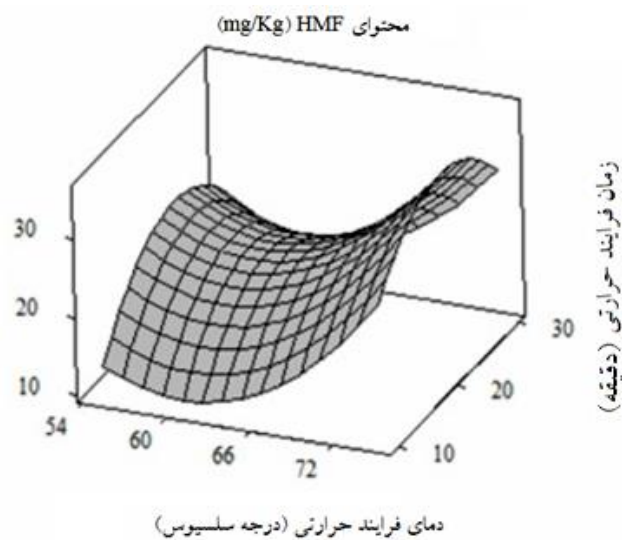
چنین شرایطی توجیه‌پذیر است که با افزایش جزئی اما غیرمعنی‌دار رطوبت در طول دوره نگهداری می‌توان انتظار داشت که با افزایش زمان نگهداری، تفاوت‌ها آشکارتر و اثر متغیرها ملاحظه گردد.

#### - اثر دما و زمان‌های مختلف فرآیند حرارتی و دمای نگهداری بر مقدار HMF

نتایج آنالیز واریانس اثرات مستقل دمای فرآیند حرارتی، زمان فرآیند حرارتی و دمای نگهداری را بر مقدار HMF نمونه‌های عسل در مدت نگهداری ۴۵ و ۹۰ روز نشان داد که در عسل نگهداری شده طی ۴۵ روز، بیشترین اثر مستقل تأثیرگذار مربوط به دمای



شکل (۱)- اثر زمان (شکل بالا) و دمای (شکل پایین) فرآیند حرارتی روی مقدار هیدروکسی متیل فورفورال طی ۴۵ روز نگهداری



شکل (۲) - اثر زمان (شکل بالا) و دمای (شکل پایین) فرآیند حرارتی روی مقدار هیدروکسی متیل فورفورال طی ۹۰ روز نگهداری

در جداول (۴) و (۵) نتایج مدل پیش‌بینی و فاکتورهای تطابق مدل بر روی مقدار HMF نمونه‌ها نشان داده شده است.

جدول (۴) - مدل پیش‌بینی مقدار HMF به روش سطح پاسخ در طی دوره نگهداری

مدت نگهداری (روز)	مدل	R <sup>2</sup>	adj-R <sup>2</sup>	pred-R <sup>2</sup>
۴۵	$Y = -37/0.386 + 0/930.36X_0 + 0/592918X_1 + 0/181802X_2$	۰/۹۷	۰/۹۶۱۰	۰/۹۳۰۳
۹۰	$Y = -57/5692 + 25/4713X_0 - 0/636535X_1 + 0/279935X_2$	۰/۹۹۳۸	۰/۹۹۲۰	۰/۹۸۶۳

جدول (۵) - مقایسه مقدار HMF در طی نگهداری ۴۵ و ۹۰ روز

شماره تیمار	زمان نگهداری (روز)	
	۴۵	۹۰
۱	۱۱/۷۰۷	۱۶/۴۶۷
۲	۷/۹۱۵	۱۰/۴۷۹
۳	۳/۱۸۱۹	۴/۰۴۱۹
۴	۱۵/۴۹۱	۱۸/۶۴۱
۵	۱۱/۱۹۷۶	۱۷/۶۶۴۶
۶	۱۱/۰۴۷۹	۱۷/۲۱۵۵
۷	۱۷/۲۸	۱۹/۷۶۰۴
۸	۱۶/۴۵۲	۲۲/۴۵۵
۹	۱۹/۵۴	۲۶/۹۴۶
۱۰	۱۵/۸۷۲	۲۳/۹۵۲
۱۱	۱۵/۱۵۴	۲۲/۴۵۵
۱۲	۱۰/۸۱۹	۳۵/۹۲۸
۱۳	۲۴/۷۲	۴۴/۹۱
۱۴	۱۶/۷۳۴	۲۵/۴۴۹

### بحث و نتیجه‌گیری

از نتایج بررسی رنگ نمونه‌ها می‌توان این‌گونه استنباط کرد که از بین متغیرهای مورد بررسی، دمای نگهداری بیشترین تأثیر را در رنگ عسل داشته است. با نگهداری عسل در دمای ۴۰ درجه سلسیوس، تخریب پلی‌فنول‌ها اتفاق می‌افتد که می‌تواند مکانیسم اولیه برای تیره شدن در طول نگهداری باشد (Bulut and Kilic, )

(2008)؛ این مورد متعاقباً باعث کاهش روشنایی رنگ در نمونه‌های نگهداری شده در دمای بالا گردید. نتایج مشابهی نیز توسط سایر محققان گزارش شده است (Bulut and Kilic, 2008; Gonzales *et al.*, 1999). با افزایش شاخص  $a^*$  (قرمزی) می‌توان بیان کرد که نگهداری عسل در دمای ۴۰ درجه سلسیوس باعث قهوه‌ای شدن عسل می‌شود. این مورد مهم‌ترین تأثیر را



میانگین رطوبت نمونه‌ها ۱۷/۸۳ درصد گزارش شد که تمامی مقادیر در محدوده استاندارد قرار داشتند و از این نظر با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت (Andrade *et al.*, 1999). بالا بودن محتوای آب آزاد در عسل، شرایط را جهت تخمیر مستعد می‌کند. عسل با محتوای رطوبت زیر ۱۷/۱ درصد تخمیر نمی‌شود، از ۱۷/۱ تا ۲۰ درصد امکان تخمیر شدن وجود دارد و بالاتر از ۲۰ درصد وقوع تخمیر حتمی است (Dimins *et al.*, 2006). علاوه بر تأثیر رطوبت بر تخمیر، پایداری فیزیکی عسل نیز تحت تأثیر این پارامتر می‌باشد. بالا بودن میزان رطوبت، متبلور شدن عسل را تسریع کرده و در جریان تبلور عسل، گلوکز از فرم هیدراته به فرم بدون آب تبدیل می‌شود. به همین دلیل عسل‌های با مقدار رطوبت بالا، زودتر شکرک می‌زنند (Sanz *et al.*, 1995). با توجه به مشاهدات سایر محققان می‌توان عنوان کرد که انجام فرآیند حرارتی با توجه به کاهش محتوای رطوبت می‌تواند منجر به مقاومت عسل در برابر تخمیر و کریستالیزاسیون گردد (Tosi *et al.*, 2004). احتمالاً در این تحقیق، به دلیل کوتاه بودن فرآیند حرارتی و مدت نگهداری، این اثرات مشاهده نگردید.

دما و زمان فرآیند حرارتی هر یک به تنهایی روی تشکیل و تجمع HMF مؤثرند و با افزایش دما و زمان نگهداری بر مقدار تجمع این ماده اضافه می‌شود. یافته‌های مطالعه‌ای نشان داد؛ حرارت دادن نمونه‌های عسل با دمای ۹۰ درجه سلسیوس به مدت ۹۰ دقیقه موجب افزایش معنی‌دار مقدار HMF و افزایش بیش از حد مجاز ۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم نشد و از این حیث با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. طبق نظر این محققان تأثیر نگهداری طولانی مدت تحت شرایط

در افزایش تغییرات رنگ نسبت به نمونه شاهد داشت. لازم به ذکر است، تغییرات رنگ عسل در طول نگهداری به pH، رطوبت و رنگ اولیه عسل بستگی دارد (Gonzales *et al.*, 1999). دلایل زیادی برای ایجاد تغییرات در رنگ نمونه‌های عسل بیان شده است، از جمله بی‌ثباتی فروکتوز (واکنش کاراملیزاسیون)، وقوع واکنش میلارد، ترکیب تانن و پلی‌فنل‌ها (Gonzales *et al.*, 1999).

از نظر مقایسه نتایج pH با گزارشات مستند در منابع دیگر، در یک بررسی که بر روی ۴۹۰ نمونه در ایران صورت گرفت میزان pH در مورد نمونه‌های عسل بین ۴/۸ - ۳/۵ گزارش شد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (Aliaghaei and Mirnezami Ziabari, 1999). مطابق این تحقیق، از بین متغیرهای تأثیرگذار بر مقدار pH، هیچ‌کدام از متغیرها بر مقدار pH اثر معنی‌داری ندارند. با در نظر گرفتن تأثیر pH بر روی بافت و قوام عسل، pH در طی استخراج و نگهداری عسل دارای اهمیت زیادی می‌باشد (Terraba *et al.*, 2002). pH عسل تأثیر زیادی بر روی آب‌گیری از فروکتوز و تشکیل HMF دارد یعنی با کاهش pH، احتمال تشکیل HMF افزایش می‌یابد (Cavia *et al.*, 2009).

رطوبت، یکی از شاخص‌های اصلی کیفیت عسل می‌باشد که به فصل برداشت، آب و هوا، میزان رطوبت و منشأ شهد گیاه بستگی دارد و میزان رسیدگی محصول را نشان می‌دهد. درصد رطوبت ۱۶ تا ۱۸ درصد اشاره بر یک میزان مناسبی از رسیدن می‌باشد. این پارامتر برای مدت ماندگاری عسل در طی نگهداری و ذخیره عسل بسیار مهم است (Costa *et al.*, 1999). در یک بررسی سه ساله بر روی ۶۰ نمونه عسل در پرتغال،

نامناسب بر افزایش میزان HMF، بیش از اعمال فرآیند حرارتی بالا می‌باشد. مقدار HMF در تمام نمونه‌های مورد بررسی در تحقیق حاضر به‌استثنای نمونه حرارت دیده در ۷۵ درجه سلسیوس به مدت ۲۰ دقیقه و نگهداری شده در ۴۰ درجه سلسیوس، پایین‌تر از حد استاندارد ملی (۴۰ میلی‌گرم در هر کیلوگرم) بود (Turhan et al., 2008).

هیدروکسی متیل فورفورال شاخص تازگی عسل بوده و تشکیل آن به عوامل مختلفی وابسته است؛ حضور قندهای ساده (گلوکز و فروکتوز) و اسیدها در عسل شرایط مطلوبی را برای تشکیل HMF فراهم می‌کنند (Khalil et al., 2010). هم‌چنین عامل اصلی در افزایش مقدار HMF، وقوع واکنش میلارد ذکر شده است. طبق نظر محققان، اسیدپته آزاد، اسیدپته کل، pH و هم‌چنین نسبت فروکتوز به گلوکز نقش مهمی در تشکیل HMF دارد (Fallico et al., 2004; Tosi et al., 2004). در اثر کاهش pH و ایجاد شرایط اسیدی، واکنش تشکیل HMF تسریع می‌شود و عسل دارای pH پایین معمولاً دارای HMF بالایی است (Ajlouni and Sujirapinyokul, 2010). در این تحقیق pH تیمارهای مورد بررسی کاهش معنی‌داری نشان نداد ولی به مقدار جزئی کاهش یافته بود. عامل دیگری که می‌تواند در روند افزایش HMF نقش داشته باشد حضور اسیدهای آلی و پایین بودن فعالیت آبی است (Ajlouni and Sujirapinyokul, 2010). رابطه HMF و فعالیت گلوکزاکسیداز به دمای حرارت‌دهی بستگی دارد؛ طوری‌که هر چه دمای حرارت‌دهی بیشتر باشد، فعالیت گلوکزاکسیداز کمتر و به دلیل وجود مقدار بیشتر گلوکز در محیط، تشکیل HMF بیشتر خواهد شد (Diminis et

2006). افزایش HMF به کاهش مقدار فروکتوز نیز بستگی دارد (Diminis et al., 2006). افزایش مقدار HMF در طی فرآیند حرارتی در گزارشات متعددی منتشر گردیده است (Ajlouni and Sujirapinyokul, 2010; Fallico et al., 2004; Kowalski, 2013; Tosi et al., 2004). اما در پژوهشی که انجام گرفت عنوان شد که فرآیند حرارتی اولیه در زمان‌های مختلف حرارت‌دهی بر میزان تشکیل HMF معنی‌دار نمی‌باشد (Ramirez et al., 2000). محققان نگهداری طولانی‌مدت را مهم‌ترین فاکتور تشکیل HMF بیان کرده‌اند که نتایج تحقیق حاضر هم‌سوبا مستندات موجود می‌باشد (Boonchiangma et al., 2011; Khalil et al., 2010; Turhan et al., 2008).

طبق نتایج بهینه‌سازی، میزان بهینه HMF تحت شرایط عملیاتی حرارت‌دهی در دمای ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه و نگهداری تحت دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ روز نتیجه گردید. با توجه به ضرورت انجام فرآیند حرارتی برای افزایش کیفیت و عمر نگهداری عسل، براساس نتایج به دست آمده، می‌توان توصیه کرد که به‌منظور محدود کردن سرعت تشکیل HMF، نمونه‌های عسل در دمای پایین حرارت دیده و نگهداری گردد.

### تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

## منابع

- Abraham, K., Gurtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A. and Appel, K.E. (2011). Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55: 667–678.
- Ajlouni, S. and Sujirapinyokul, P. (2010). Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chemistry*, 119: 1000–1005.
- Aliaghaei, M. and Mirnezami Ziabari, S.H. (1999). Curative properties of honey, honey bee and their products. (3<sup>th</sup> edition), Nopardazan Publication, pp. 24-61 [In Persian].
- Andrade, P.B., Amaral, M.T., Isabel, P., Carvalho, J.C.M.F., Seabra, R.M. and Cunha A.P.D. (1999). Physicochemical attributes and pollen spectrum of Portuguese heather honeys. *Food Chemistry*, 66: 503-510.
- Boonchiangma, S., Chanthai, S., Srijaranai, S. and Srijaranai, S. (2011). Chemical compositions and non-enzymatic browning compound of Thai honey: A kinetic study. *Journal of food process engineering*, 34: 1584-1596.
- Bulut, L. and Kilic, M. (2009). Kinetics of hydroxymethyl furfural accumulation and color change honey during storage in relation to moisture content. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33: 22–32.
- Cavia, M.M., Fernandez-Muino, M.A., Huidobro, J.F., Alvarez, C. and Sancho, M.T. (2009). Evolution of monosaccharides of honey over 3 years: influence of induced granulation. *International journal of food science and technology*, 44: 623-628.
- Costa, L., M. Albuquerque., L. Trugo., L. Quinteiro., O. Barth., M. Ribeiro. and C. De Maria. (1999). Determination of non-volatile compounds of different botanical origin Brazilian honeys. *Food Chemistry*, 65: 347–352.
- Dimins, F., Kuka, P., Kuka, M. and Cakste, I. (2006). The criteria of honey quality and its changes during storage and thermal treatment. *Raksti*, 16: 73-78.
- Durling, L.J.K., Busk, L. and Hellman, B. (2009). Evaluation of the DNA damaging effect of the heat-induced food toxicant 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in various cell lines with different activities of sulfotransferases. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 880-884.
- Fallico, B., Zappala, M., Arena, E. and Verzera, A. (2004). Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 85: 305–313.
- Gonzales, A.P., Burin, L. and Buera, M.D.P. (1999). Color changes during storage of honeys in relation to their composition and initial color. *Food research international*, 32: 185-191.
- Institute of Standards and Industrial Research of Iran. (2013). Honey-Specification and test methods. 7<sup>th</sup> Revision, ISIRI No. 92 [In Persian].
- Jahed Khaniki, Gh.R. and Kamkar, A. (2005). A survey of physico-chemical properties of produced honey in Garmsar city in 2003. *Iranian Journal of Food Science and Technology*, 2: 35-41. [In Persian].
- Janzowski, C., Glaab, V., Samimi, E., Schlatter, J. and Eisenbrand, G. (2000). 5-Hydroxymethylfurfural: assessment mutagenicity, DNA-damaging potential and reactivity towards cellular glutathione. *Food Chemistry Toxicol*, 38: 801-809.
- Khalil, M.I., Sulaiman, S.A. and Gan, S.H. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*, 48: 2388–2392.
- Kowalski, S. (2013). Changes of antioxidant activity and formation of 5-hydroxymethylfurfural in honey during thermal and microwave processing. *Food Chemistry*, 141: 1378-1382.
- Lee, Y.C., Shlyankevich, M., Jeong, H-K., Douglas, J.S. and Surh, T.J. (1995). Bioactivation of 5-hydroxymethyl-2-furfuraldehyde to an electrophilic and mutagenic allylicsulfuric acid ester. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 209: 996-1002.

- 
- Pryor, R. L., Wu, X. and Gu, L. (2006). Identification of urinary excretion of metabolites of 5-(hydroxymethyl)-2-furfural in human subjects following consumption of dried plums or dried plum juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54: 3744-3749.
  - Ramirez, M.A., Gonzalez, S.A. and Sauriduch, E. (2000). Effect of the temporary thermic treatment of honey on variation of the quality of the same during storage. *Apiacta*, 35: 162-170.
  - Saadatmand, S.J. (2006). Adulterated honey. Sokhan Gostar Publication, pp. 47-71 [In Persian].
  - Terraba, A., M.J. Diez. and F.J. Heredia. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*. 79: 373-379.
  - Tosi, E.A., Re, E., Lucero, H. and Bulacio, L. (2004). Effect of honey high-temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallization phenomena and fungal inhibition. *LWT*, 37: 669-678.
  - Turhan, I., Tetik, N., Karhan, M., Gurel, F. and Tavukcuoglu, H.R. (2008). Quality of honeys influenced by thermal treatment. *LWT*, 41: 1396-1399.
  - Yam, K.L. and S.E. Papadakis. (2004). A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering*, 61: 137-142.
  - Zhang, X., Chan, C., Stamp, D. and Minkin, S. (1993). Initiation and promotion of colonic aberrant crypt foci in rats by 5-hydroxymethyl-2-furaldehyde in thermolyzed sucrose. *Carcinogenesis*, 14: 773-775.

## Thermal processing optimization of honey using physicochemical properties and hydroxymethylfurfural content

Seyyedi Mansoor, S.<sup>1</sup>, Roufegarinejad, L.<sup>2\*</sup>

1. M.Sc Graduate in Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2. Assistant Professor of Department of Food Science and Technology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

\*Corresponding Author's e.mail: l.roufegari@iaut.ac.ir  
(Received: 2015/12/4 Accepted: 2017/9/20)

### Abstract

Hydroxymethylfurfural (HMF) is one of the compounds formed due to the heat treatment and storage of honey and the maximum level of HMF in honey have been set in 40 ppm under codex standards. In this study, the effects of heating temperature (55, 65 and 75 °C), heating duration (10, 20 and 30 min) as well as storage temperature (25 and 40 °C) were assayed during the three months of storage, based on response surface methodology. The effect of the above-mentioned variables on physicochemical properties (Lab color factors, pH, and moisture) and HMF content (based on spectrophotometric technique) of the samples was studied. Prediction model of each treatment was calculated. The outcomes during the 45 and 90 days of storage were analyzed. Results showed that temperature, time of heat treatment and storage duration had no effect on pH, moisture content, and color; while storage temperature had a significant effect on L\* and a\*. HMF content was affected by of all the variables so that its rate was increased significantly with increasing thermal process and storage time. Among the studied samples, HMF content was exceeded the standard limit in the sample heated at 75 °C for 20 min and kept at 40 °C for 90 days. The optimal level of HMF resulted by heating at 55 °C for 10 min and under the storage temperature of 25 °C for 45 days.

**Conflict of interest:** None declared.

**Keywords:** Honey, Hydroxymethylfurfural, Response surface methodology, Storage, Thermal Process