بررسی تکنولوژی فرآوری عسل در افزایش فعالیت آنتی‌‌ اکسیدانی و ضد میکروبی

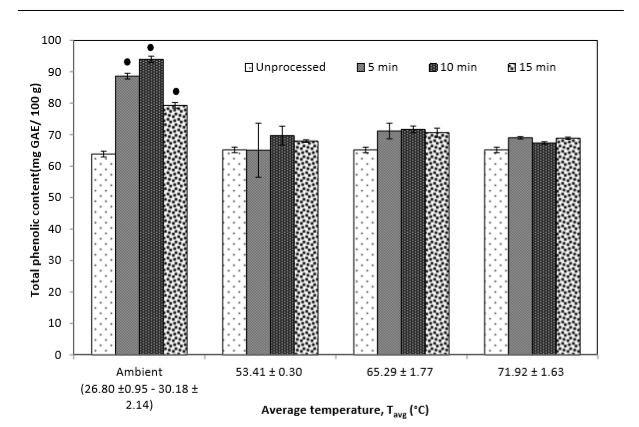
سیده شهربانو جعفری1، مهران میراولیایی2\*

1. دانشجوی دکتری رشته بیوشیمی، گروه زيست شناسي، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

2\* دانشيار گروه زيست شناسي، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

[miroliaei@sci.ui.ac.ir](mailto:miroliaei@sci.ui.ac.ir)

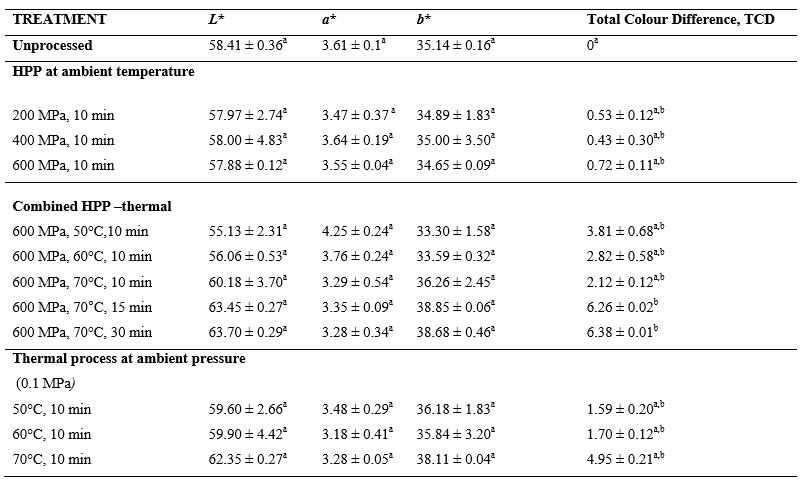
09393503263



شکل 1: محتوای فنلی کل نمونه های عسل پس از تیمار با HPP در 600 مگاپاسکال، برای دماها و زمانهای مختلف نسبت به نمونه های فرآوری نشده. مقادیر میانگین ± انحراف معیار (3=n). گلوله در نمونه فرآوری شده نسبت به عسل فرآوری نشده.

تفاوت معنی داری دارد (05/0 p <).

جدول1: مقادیر L \*، a \*، b \* و تفاوت رنگ کلی (TCD) برای HPP، HPP ترکیب شده با حرارت و حرارتی عسل مانوکا



بررسی تکنولوژی فرآوری عسل در افزایش فعالیت آنتی‌‌ اکسیدانی و ضد میکروبی

سیده شهربانو جعفری1، مهران میراولیایی2\*

1. دانشجوی دکتری رشته بیوشیمی، گروه زيست شناسي، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

2\* دانشيار گروه زيست شناسي، دانشکده علوم، دانشگاه اصفهان

miroliaei@sci.ui.ac.ir

**چکیده**

عسل یک محصول طبیعی زیستی با ارزش غذایی و دارویی بسیار بالا است که دارای ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و ضد‌ میکروبی است. دو مرحله حرارتی برای فرآوری عسل در صنعت بکار می‌رود که عبارتند از: به حالت مایع درآوردن و پاستوریزه­کردن . هر دو مرحله در دمای بیش از 50 درجه سانتیگراد یا حتی بالاتر از 77 درجه سانتیگراد انجام می‌شود. به غیر از تیمارهای متداول، تیمار حرارتی تغییریافته شامل حرارتی میکروویو، حرارتی مادون قرمز و تیمار بدون حرارت شامل فراصوت، فرابنفش و فیلتر غشایی برای تضمین کیفیت و سلامت عسل وجود دارد. در این پژوهش به بررسی تکنولوژی‌های فرآوری عسل و بطور خاص تکنیک فرآوری تحت فشار بالا (HPP) همچنین اثر آنها بر فعالیت آنتی‌‌‌اکسیدانی و ضد‌‌ میکروبی عسل پرداخته شده است. کاربرد تکنیک HPP در عسل مانوکا باعث افزایش 47 درصدی محتوای کل فنول (TPC)، بهبود فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حفظ رنگ و حالت روانی آن می‌شود.

**کلید واژگان**: فرآوری تحت فشار، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خاصیت ضد میکروبی

**مقدمه**

عسل غذای شیرین و چسبناکی است که بطور سنتی توسط مردم جهان مصرف می شود. عسل از مونوساکاریدها، ترکیبات دارای اثرات بیولوژیکی و آنتی اکسیدان هایی مثل فنولیک اسید، فلاونوئیدها، آنتوسیانین ها، کارو تنوئیدها و ویتامین ها تشکیل شده است. ثابت شده است که عسل دارای فعالیت آنتی اکسیدانی یا ضد توموری، ضد‌میکروبی، ضد باکتریایی، ضد ویروسی، ضد انگلی و ضد التهاب است، با این حال رنگ، طعم و ترکیبات، عسل همچنین ویژگیهای فیزیکوشیمیایی و ظرفیت آنتی اکسیدانی آن اساسا به منبع گل ها، ژئوگرافی منطقه، آب و هوا و نوع زنبور عسل وابسته می باشد. علاوه بر این روشهای نگهداری، شرایط بسته بندی و زمان ذخیره سازی ویژگیهای عسل را تحت تاثیر قرار می دهد(1). عسل استخراج شده از شانه ها دارای دانه گرده، موم و مواد نامطلوب دیگر و همچنین مخمرها است، که کیفیت بهتر محصول و ماندگاری آن را از بین می برد. بنابراین عسل قبل از بسته بندی شدن فرآوری می شود. دو راهکار مهم فرآوری فیلتراسیون و گرمادهی است. جداسازی دانه های گرده، موم و مواد دیگر معمولاً به وسیله ی استریل کردن و فیلتر کردن انجام می‌شود(2). در کارخانه های فرآوری تجاری عسل، به منظور حذف میکروارگانیسم ها، تسهیل بسته بندی و به تأخیر انداختن کریستالیزه شدن، عسل را حرارت می دهند. فرآوری حرارتی عسل میکروارگانیسمهای مسئول فساد را از بین می‌برد و میزان رطوبت را به اندازه ای کاهش می دهد که فرایند تخمیر به تأخیر افتاد(2). با وجود اینکه فرآوری حرارتی یک راه معمول برای محافظت عسل از تخمیر می باشد اما دمای بالا می تواند به کیفیت و خواص بیولوژیکی و همچنین ماهیت آن آسیب برساند(3). به نظر می رسد وقتی فرآوری حرارتی در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد و بالاتر انجام می شود ناپایداری ترکیبات، تجزیه ویتامین ها و تخریب تمام خصوصیات آنزیمی را سبب می شود(4). بنابراین امکان فرآوری حرارتی برای بهبود ارزش غذایی زمانی که عسل در معرض دمای بالا قرار می گیرد، نسبتاً محدود می‌شود. برای حفظ کیفیت عسل و نگهداری طولانی مدت آن لازم است تکنیکهای فرآوری جدید مانند فرآوری بدون حرارت اجرا شود. تکنیک فرآوری در فشار بالا(HPP) یک تکنیک بدون حرارت حفاظت غذایی است که به عنوان یکی از بهترین نوآوری ها در فرآوری غذایی در طول ۵۰ سال گذشته ذکر شده است. HPP می تواند بدون استفاده از حرارت قابل توجه آسیب رسان به طعم، بافت و ارزش غذایی انجام شود(5). این فرایند شامل اعمال تقریبا 900-400 مگاپاسکال فشار در دمای فرآوری ملایم و خنک بدون افزایش حرارت می باشد. مکانیسمHPP براساس کاهش در حجم است؛ به نحوی که با افزایش فشار، حجم آزاد کاهش می یابد، و تعاملات جذبی و دفعی مولکولهای نزدیک تغییر پیدا می کند و بنابراین روی سرعت واکنش های شیمیایی و بیوشیمیایی اثر خواهد گذاشت. فشار یکنواختی در سراسر نمونه غذایی توزیع می شود بنابراین وقتی این فشار برداشته می شود نمونه ها به حالت اولیه خود بر می گردند. علاوه بر این، نمونه ها در طی اعمال فشار به طور مکانیکی آسیب نمی بینند و شکل اولیه محصولات تحت تاثیر قرار نمی گیرد، متعاقباً از بد شکلی یا له شدن محصولات غذایی جلوگیری می شود. این شرایط اجازه می‌دهد بیشتر مواد غذایی با کمترین میزان اثر روی طعم، بافت، ظاهر و یا ارزش غذایی حفاظت شوند(3). این تحقیق به بررسی تمایلات اخیر پژوهشگران برای توسعه فناوری های پیشرفته و نوآوری در فرآوری عسل به عنوان یک تلاش برای حفظ کیفیت آن در مقایسه با روش حرارتی معمولی انجام شده است. موضوع مهم این تحقیق بررسی اثر تکنیکHPP روی عسل مانوکا می باشد، به عبارتی اثرHPP روی کیفیت آن یعنی، محتوای کل فنولیک اسید، فعالیت آنتی اکسیدانی، رنگ، ویسکوزیته، فعالیت ضد میکروبی، شکل گیری رنگدانه های قهوه ای و محتوای هیدروکسی متیل فورفورال است.

**عسل: شیرین کننده طبیعی و ویژگی های با ارزش آن**

عسل شهد گلی است که توسط زنبور عسل جمع آوری و خشک شده است تا خواص مغذی آن را افزایش داده و برای مصرف انسان آماده کند. عسل به عنوان یک شیرین کننده اصلی طبیعی شناخته شده است و حداقل 6000 سال به عنوان غذا مصرف شده است. ترکیب منحصربه فردی از اجزای موجود در عسل آن را به یک افزودنی با ارزش برای رژیم غذایی و دارویی تبدیل کرده است. طبق گزارش سازمان غذا و کشاورزی سازمان ملل متحد(FAO) تولید عسل در سال ۱۹۶۱، هفت میلیون تن بوده و در سال ۲۰۰۹ به میزان 5/1 میلیون تن افزایش یافته است(6). انتظار می رود تقاضا برای چند سال آینده افزایش خواهد یافت. محصولات عسل در سراسر جهان توزیع شده است؛ چین بزرگترین تولید کننده عسل است در حالی که اروپا بزرگترین منطقه تولید می باشد و نیوزلند حدود یک درصد تولید جهانی را تشکیل می دهد. عسل مانوکای نیوزلند گرانترین عسل در جهان است و ترکیب عسل بر اساس منشاء گیاهی و شرایط آب و هوایی آن متفاوت است(7). حدود 17 درصد عسل از آب تشکیل شده است، اما میزان رطوبت آن می تواند در حدود ۱۳ تا ۲۵ درصد متغیر باشد(3). وجود رطوبت کمتر از ۱۷ درصد در عسل سطح ایمنی برای مهار فعالیت مخمر محسوب می شود(2). اجزای اصلی عسل کربوهیدراتها می باشند که شامل فروکتوز و گلوکز می باشد. علاوه بر کربوهیدراتها، عسل حاوی انواع زیادی از ترکیبات دیگر در مقادیر اندک می باشد که اثرات تغذیه ای و بیولوژیکی متعددی را ایجاد می کند. محتوای آنتی‌اکسیدانی بالا باعث کاهش خطر ابتلا به دیابت قلبی، سرطان، کاتاراکت و فرآیندهای التهابی می شود(8)(9). به علت ارزش مغذی مناسب همچنین محتوای کربوهیدرات ها، پروتئین ها، ویتامین ها، مواد معدنی و انواع دیگری از ترکیبات، عسل به عنوان یک غذا در بخش های مختلف جهان و به روش های متفاوت مصرف می شود.

**فرآوری** **عسل**

در فرآوری معمول عسل استفاده از گرما برای دست ورزی سریع، انحلال ذرات بزرگ قند و حفظ کیفیت عسل ضروری است. دو مرحله حرارتی برای فرآوری عسل در صنعت به کار برده می‌شود که عبارتند از مایع سازی، برای نگهداری عسل به شکل مایع تا مدت زمانی که ممکن است، پاستوریزه کردن که مخمر ها و دیگر میکروارگانیسم های عامل فساد را از بین می برد و همچنین باعث جلوگیری از تخمیر می شود(2). هر دو مرحله در دمای بیش از ۵۰ یا حتی تا ۷۷ درجه سانتیگراد انجام می شود. به غیر از تیمارهای معمول، تیمار حرارتی تغییریافته (مانند حرارتی مایکروویو و حرارتی مادون قرمز) و تیمار بدون حرارت(مانند فراصوت، فرابنفش و فیلتر غشایی) به منظور تضمین کیفیت و ایمنی عسل پیشنهاد، بررسی و انجام شده است(3). این تکنولوژی های فرآوری جدید غذایی می توانند سلامتی، تازگی، طعم و ارزش مغذی مواد غذایی را بدون استفاده از گرما یا نگهدارنده های شیمیایی حفظ کنند(10).

**تیمار حرارتی معمولی عسل**

فرآوری حرارتی یک تکنولوژی محبوب صنایع غذایی است که ایمن بودن محصولات از میکروب را تضمین می کند. اصل ضروری این روش ها بر پایه مکانیسم انتقال و هدایت گرمای تولید شده از احتراق سوخت و یا به وسیله یک گرمایش الکتریکی، به درون محصول می باشد(11). مشکل عمده ای که تولیدکنندگان عسل با آن مواجه هستند از بین رفتن سریع کیفیت عسل به علت تخمیر می باشد(2). بنابراین هدف اصلی فرآوری حرارتی عسل حفظ پایداری آن همراه با یک نیمه عمر طولانی است. مایع سازی عسل(تقریبا در ۵۵ درجه سانتیگراد) و پاستوریزه کردن(به طور معمول در دمای بالای ۷۰ درجه سانتیگراد انجام می شود)، دو مرحله ای تیمار حرارتی عسل هستند که برای تضمین ماندگاری در شکل مایع و همچنین تخریب میکروارگانیسم های عامل فساد لازم می باشند(12). مطالعات نشان می دهد که حرارت دادن عسل در دمای بین ۶۰ تا ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه و همچنین حرارت غیر مستقیم در فرآوری معمولی در محدوده دمایی ۶۰ تا ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ تا ۳۰ دقیقه می تواند مخمر ها را به طور کامل از بین ببرد. با این که عسل دارای خاصیت ضد میکروبی، محتوای آب کم و غلظت بالای شکر می باشد، مخمرها می توانند تا دهها هزار در هر گرم رشد کنند(8). ساکرومیسس سرویسیه به عنوان مخمراصلی تخمیر عسل شناخته شده است. همچنین این مخمر به عنوان مخمر اسموفیل یا شکر معرفی شده است زیرا می تواند در محتوای آب پایین و غلظت بالای قند عسل مقاومت کند. عسل غذایی با محتوای بسیار بالای مخمری قابل فروش نیست. Tosi و همکاران(2004) گزارش کردند زمانی که عسل طبیعی در دمای بالا یعنی ۸۰ درجه سانتیگراد برای ۶۰ ثانیه در مرحله گذار و ۳۰ ثانیه در مرحله ایزوترمال با استفاده از تکنیک دمای بالا-زمان کوتاه گرمادهی می شود، تمام مخمرها و قارچ ها از بین می‌روند(12). در حالیکه Wakhle و همکاران(1995) مهار کامل مخمرها را با استفاده از دمای پایین تر در محدوده ی ۶۳ تا ۶۵ درجه سانتیگراد اما با مدت زمان حرارت طولانی تر از 5/7 تا ۳۵ دقیقه را نشان داده اند(13). کلوستریدیوم بوتولینوم عسل را آلوده می کند و باعث بیماری به نام بوتولیسم می شود. عسل بدون اسپور کلوستریدیوم بوتولینوم می تواند به طور بالقوه برای تولید غذای کودکان استفاده شود(14). غیرفعالسازی ناچیز اسپورهای کلوستریدیوم بوتولینوم به وسیله شوک حرارتی گزارش شده است. به طور کلی ترکیبات متفاوتی از تیمار حرارتی برای غیر فعال کردن همه انواع میکروبها خصوصاً کپک قارچی و مخمر ها ضروری است زیرا آنها تنها میکروب هایی هستند که در عسل رشد می کنند(3).

**روشهای فرآوری حرارتی تغییر یافته عسل**

**تکنیک میکروویو حرارتی**

استفاده از میکروویو حرارتی در صنایع غذایی نشان دهنده مزایای قابل توجه آن نسبت به روشهای معمولی در کاهش زمان فرایند و همچنین بهبود کیفیت مواد غذایی است. میکروویو حرارتی به علت اثر قطبیت تابش الکترومغناطیسی در فرکانس ۳۰۰ گیگاهرتز اتفاق می افتد. تاثیر میکروویو بر کیفیت عسل به خوبی ثابت شده است. سطوح انرژی و زمان تیمار پارامترهای مهمی هستند که بر کیفیت عسل یعنی محتوای هیدروکسی متیل فورفورال و رنگدانه های قهوه ای آن تاثیر می گذارند(3). در شکل گیری هیدروکسی متیل فورفورال و رنگدانه های قهوه ای، همراه با افزایش شدت انرژی و مدت زمان حرارت مقدار این ترکیبات افزایش می یابد. ترکیبات مختلف مدت زمان حرارت(15 تا 90 ثانیه) و شدت انرژی(۱۷۵ تا ۸۰۰ وات) تغییراتی را در خواص عسل نشان می دهد. در سطح انرژی بالاتر و مدت زمان کوتاه تر، فرآوری بهتر از سطح انرژی پایین تر و مدت زمان طولانی تر است. سطح انرژی ۸۰۰ وات برای 15 ثانیه باعث کاهش قابل توجه تعداد مخمرها می شود، این به علت افزایش سریع دمای نمونه بعد از در معرض قرار گرفتن با میکروویو حرارتی است که منجر به شکستگی دیواره سلولی مخمرها می شود. مطالعات Hebber و همکاران(۲۰۰۳) کاهش فعالیت دیاستازی را به ۵۰ درصد مقدار اولیه آن بعد از حرارت دهی در مدت زمان طولانی تر(۶۰ تا ۹۰ ثانیه) و در شدت انرژی های3/6، 1/9 و 9/11 وات‌ بر ژول را نشان می دهد(15). Ghazalli و همکاران(1999) نشان دادند که انرژی میکروویو مورد استفاده برای حرارت دادن نمونه های عسل استارفروت در دمای ۷۱ درجه سانتیگراد بر pH، اسیدیته، فعالیت آب، محتوای رطوبت، نیتروژن، گلوکز، فروکتوز، مالتوز و ساکاروز عسل اثر ندارد. با این حال وقتی نمونه ها بیش از 16هفته ذخیره می شوند تغییرات عمده ی در محتوای رطوبت، اسیدیته، محتوای شکر و فعالیت دیاستازی مشاهده می شود(16).

**تکنیک حرارت مادون قرمز**

حرارت مادون قرمز در حال رسیدن به محبوبیت است و به طور گسترده ای برای انواع عملیات های فرآوری حرارتی مانند حذف هیدروژن و پاستوریزه کردن بکار می رود و در مقایسه با حرارت دهی معمولی کاربرد فراوان دارد. علاوه بر این مزایای قابل توجهی نسبت به حرارت معمولی مانند کاهش اتلاف کیفیت، تجهیزات ساده و به هم پیوسته و صرفه‌جویی قابل توجه انرژی را دارد. (17). در پردازش مواد غذایی انرژی الکترومغناطیسی هنگامی که به سطح آنها برخورد می کند ممکن است تغییراتی را در الکترونها، حالت های ارتعاشی و چرخشی اتمها و مولکولها ایجاد کند. چنانچه مواد غذایی در معرض اشعه مادون قرمز قرار گیرند، این اشعه جذب، منعکس و پراکنده می شود و شدت جذب در طول موج های مختلف برای ترکیبات مختلف غذایی متفاوت است. کاربرد مادون قرمز حرارتی به طور موثری برای غیر فعال کردن آنزیم ها و پاتوژن ها شامل باکتری ها، اسپورها، مخمرها و کپک ها در غذاهای مایع و جامد گزارش شده است(3). کارایی این غیر فعال کردن بستگی به پارامترهایی دارد که شامل سطح انرژی، دمای نمونه غذایی، طول موج، پهنای باند، ضخامت نمونه، نوع میکروارگانیسم و نوع مواد غذایی می باشد. Hebbe و همکاران(2003) اثر حرارات مادون قرمز را بر کیفیت عسل زنبور جنگلی مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که وقتی نمونه ها به طور پیوسته برای 4-2 و 8 دقیقه حرارت داده می شوند تعداد مخمرها به طور معنی داری کاهش می یابد و با توجه به کیفیت، مقدار هیدروکسی متیل فورفورال ۲۲ درصد افزایش می‌یابد در حالی که بعد از ۵ دقیقه حرارت در دمای ۸۵ درجه سانتیگراد فعالیت آنزیمی ۳۷ درصد افت می کند. با این حال وقتی که نمونه ها به مدت ۸ دقیقه در دمای خیلی بالا(110 درجه سانتیگراد) حرارت داده شده بودند فعالیت دیاستازی به شدت کاهش یافت، که این به طور واضحی حرارت بیش از اندازه عسل را بیان می کند. مزیت این امر این است که در این زمان هیچ واحد تشکیل دهنده کلونی از مخمر ها مشاهده نمی شود(15).

**تکنیک فراصوت**

فراصوت با استفاده از نیروی ارتعاشی در سطح مواد تولید می شود. تکنولوژیست های غذایی کشف کرده اند که امکان استفاده از بیشترین قدرت فراصوت(۵ وات بر سانتی متر مربع) در فراوانی پایین تر(معمولاً حدود ۴۰ کیلو هرتز) وجود دارد که معمولا به عنوان قدرت فراصوت نسبت داده می شود. وقتی که فراصوت به سطح مواد اعمال می شود، نیروهای ارتعاشی از طریق پیوند های درون مولکولی منتقل می شود. در فرآوری غذایی استفاده از فراصوت، کاربردهای مختلفی مانند کریستالیزه کردن چربیها و قندها، مهار فعالیت آنزیمی و همچنین افزایش حفاظت را فراهم کرده است. سونیکیت کردن در ترکیب با حرارت و فشار پتانسیل بالقوه ی برای افزایش غیر فعال سازی میکروبی دارد(3). در فرآوری عسل، کاربرد فراصوت در حذف کریستالهای موجود با فرکانس ۹ کیلو هرتز مفید می باشد. Liebl و همکاران(1977) روشی را برای پیشگیری از گرانوله شدن ارائه دادند که با استفاده از فرکانس بالاتر از ۱۸ کیلو هرتز می توانست زمان مایع شدن را به کمتر از ۳۰ ثانیه کاهش دهد. در حالیکه تراسیلو و همکاران(1994) دریافتند که نمونه های تحت تیمار فراصوت در حالت مایع به مدت ۳۴۴ روز باقی می مانند، در مقایسه با نمونه های تیمار شده با حرارت که در حالت مایع فقط ۲۸۲ روز باقی می‌ماندند. همچنین گزارش شده است که اندازه پروب و تعداد چرخه ها اثر قابل توجهی روی زمان مایع شدن دارد(18). D‟Arcy و همکاران(۲۰۰۷) نیز گزارش کرده اند که هیچ تفاوت معنی داری در تغییرات رنگ، بین نمونه های تیمار شده و تیمار نشده با فراصوت وجود ندارد. در حالی که اثر فراصوت روی غلظت هیدروکسی متیل فورفورال در عسل بسته به پروپ و چرخه های استفاده شده متفاوت است(19). با توجه به محتوای میکروبی، مطالعات نشان می دهد که فراصوت یک اثر مخرب روی میکروارگانیسم ها دارد به طوری که باعث کاهش ۵۰ درصدی کل باکتری های هوازی کانولا و کتان و ۳ درصد کل باکتری های هوازی گل آفتابگردان می شود(18). این نتایج با نظریات D‟ Arcy سازگار است که بیان می‌کند غیرفعال شدن میکروب ها در عسل تیمار شده با فراصوت به علت گرما دهی موضعی، سراسری و تشکیل رادیکالهای آزاد می باشد.

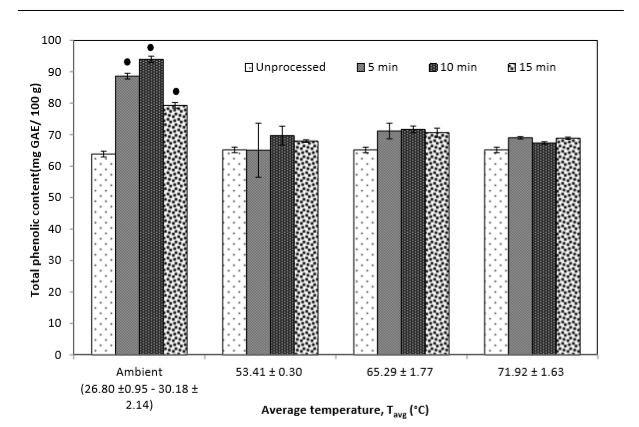
**تکنیک فرابنفش**

فرابنفش(UV) به عنوان یک فرآیند الکترومغناطیسی است که توجه بیشتر صنایع غذایی را به عنوان یک تکنولوژی تغییر یافته خصوصا برای غیر فعال کردن میکروارگانیسم های فساد و بیماری زا به خود جلب کرده است(20). از لحاظ اقتصادی حالت پالسی نور UV در مقایسه با حالت پیوسته نور UV برای غیر فعال کردن سلول های گیاهی و اسپور ها می تواند مقرون به صرفه باشد. در نورUV پالسی، پالس های بسیار کوتاه مدت(چند نانوثانیه) پس از ذخیره شدن در خازن به مدت کوتاه(چند میلی ثانیه) آزاد می شود. انرژی الکتریکی از طریق یک لامپ پر شده با زنون منتقل می شود و سپس یونیزه شدن گازها یک طیف گسترده ای از نور را در طول موج ناحیهUV تولید می کند. در بررسی روش نورUV، دان و همکاران(1995) بیان کردند که تیمار نور UV پالسی موثرترین و سریعترین روش غیر فعال سازی میکروارگانیسم ها می‌باشد(21). در فرآوری عسل، استفاده از تیمار UV محدود شده بود ولی هم اکنون در حال بهبود است. هدف از به کار بردن نور UV بیشتر برای غیرفعال کردن اسپورها می باشد. هلیکاس و همکاران(2003) نور پالسی را برای غیر فعال کردن اسپورانژهای کلوستریدیوم عسل استفاده کردند. افزایش تعداد پالس ها باعث کاهش اسپورانژهای کلوستریدیوم از صفر درصد(۱۵ و ۱۳۵ پالس به ترتیب برای 5 و ۴۵ ثانیه) به 4/89 درصد(540 پالس، 3 دقیقه) شده بود. با این حال به علت محدودیت نفوذ نور UV در عسل این نور برای غیر فعال کردن کامل اسپورانژهای کلوستریدیوم ناموفق بود(22). بنابراین غیر فعال شدن اسپورها در عسل تیمار شده با UV زمانی که تعداد پالس ها افزایش یابد موثرتر می باشد.

**تکنیک فرآوری فشار بالا**

HPP یا فرآوری فشار بالا، که به عنوان فرآوری فشار بالای هیدروستاتیکی(HHP) نیز شناخته می شود، یک تیمار بدون حرارت غذایی جدید است. HPP به وسیله اعمال فشار به موادغذایی محاط شده در یک مخزن صورت می‌گیرد. HPP قادر است ارگانیسم های بیماری زا و مخرب مواد غذایی را غیر فعال کند، بدون این که باعث از دست رفتن قابل توجهی از حساسیت و ارزش مغذی محصولات غذایی شود(1). اولین کاربرد HPP توسط هیت و همکاران(۱۸۹۹) برای پاستوریزه کردن شیر و محصولات غذایی دیگر و افزایش طول عمر آنها گزارش شده است(23). HPP به تنهایی اثر خیلی کمی روی اسپورها دارد، اما وقتی که همراه با تیمار های دیگر باشد می تواند برای استریل کردن مواد غذایی استفاده شود. فرید و همکاران(۲۰۰۶) یک فرایند جدید تیمار به نام فشار ملایم یا خنک کننده استریل شدن حرارتی را ارائه دادند(24). ترکیب گرما و فشار می تواند باعث غیر فعال شدن کامل میکروارگانیسم های گیاهی و اسپورها شود، همچنین باعث حداقل تاثیر بر خواص حسی می شود. درHPP فشار بالا آسیب غشایی را القا می کند، دناتوره شدن پروتئین ها و کاهش pH درون سلولی باعث غیر فعال شدن میکروارگانیسم های گیاهی می شود. مکانیسم غیر فعال شدن باسیلوس سوبتیلیس خیلی مطالعه شده است. اعتقاد بر این است که غیر فعال شدن می تواند به وسیله ترکیب کردنHPP با تیمار حرارتی متعاقب آن به دست آید. فرض بر این است که اسپورها تحت شرایط فشار متوسط جوانه می زند(فشار جوانه زنی بستگی به انواع اسپورها دارد) سپس اسپورهای جوانه زده به وسیله گرما غیر فعال می شوند. HPP در ۶۰ و ۹۰ درجه سانتیگراد به مدت 5/12 دقیقه، باعث کاهش اسپور های کلوستریدیوم پرفرینگنس شیر می شود(1). اکثر برنامه های HPP در صنایع غذایی شامل پاستوریزه کردن غذاها در دمای محیط، در فشار حدود 600-400 مگاپاسکال و در دمای فرآوری ملایم یا خنک همراه با افزایش حرارت و یا بدون حرارت می باشد. این شرایط باعث می شود که اکثر غذاها با حداقل اثر بر روی طعم، مزه، بافت و ارزش غذایی حفظ شوند(25). علاوه بر این HPP در غیر فعال کردن میکروارگانیسم های مضر پاتوژن و فساد گیاهی و همچنین آنزیم ها نقش دارد(3). در حال حاضرHPP گرانتر از روشهای معمول است. استفاده از HPP مزایای زیادی را برای صنایع غذایی در پاسخ به تامین نیاز مصرف کنندگان ارائه می دهد. برخلاف حرارت، تیمار HPP تغییری در عطر، طعم و یا دیگر خصوصیات حسی غذاها ایجاد نمی کند و ارزش غذایی را نیز حفظ می کند. این به علت اثرات محدوده آن روی پیوند های کووالان ترکیبات با وزن مولکولی پایین است که منجر به تغییرات جزئی در کیفیت غذایی و حسی می شود. HPP معمولا در شرایط 1000-100 مگاپاسکال و در دمای 60-20 درجه سانتیگراد انجام می شود(3). بطور کلی HPP احتمالاً نمی تواند جایگزین همه روشهای معمولی فرآوری باشد اما ممکن است کاربرد های مکملی داشته باشد و ویژگی های فیزیکی و شیمیایی این تکنولوژی فرصت های فوق العاده ای را برای صنایع فراهم می کند. Akhmazillah و همکاران(2014) اثر HPP را در محدوده دمای محیط روی محتوای فنولیک اسید(TPC) بررسی کردند به نحوی که نمونه های عسل را در مدت زمانهای مختلف 5، 10 و 15 دقیقه در فشار 200، 400 و 600 مگاپاسکال قرار دادند. به طور کلی نتایج نشان داد که عسل تیمار شده با HPP سطح بالاتری از TPC را در مقایسه با عسل فرآوری نشده دارد. شرایط فرآوری 600 مگاپاسکال برای ۱۰ دقیقه افزایش معنی داری را در مقایسه با عسل فرآوری نشده نشان داد. بیشترین افزایش در حدود 16/47 درصد برای شرایط فرآوری مشخص شده بود(3)(شکل1). افزایش TPC دراین غذاها عمدتاً به تخریب غشاهای سلولی مربوط می شود. غشاهای سلولی و اندامک ها تخریب شده و آنزیم ها از وزیکول ها آزاد می شوند و سپس روی TPC و فعالیت آنتی اکسیدانی در نمونه ها اثر می گذارند. پروتئین ها، پلی ساکاریدها، آنزیم ها و یا سایر مواد از دانه ی گرده آزاد می شوند(که ممکن است تحت تاثیر HPP صورت گیرد) متعاقبا باعث افزایش محتوای فنولیک اسید و فعالیت آنتی اکسیدانی عسل می شوند. برای تایید این کار نیاز به کار بیشتر است. در همه دوره های تیمار، تیمار 600 مگاپاسکال، TPC بالاتری را در مقایسه با200 و 400 مگاپاسکال نشان داده بود. فرض بر این است که علت افزایش TPC در600 مگاپاسکال به خاطر افزایش در فعالیت آنزیم های موجود در عسل است، مانند آمیلاز، که آنزیم غالب در عسل می باشد. فعالیت آنزیمی بالا در استخراج ترکیبات آنتی اکسیدان و همچنین ترکیبات فنولی کمک می کند.

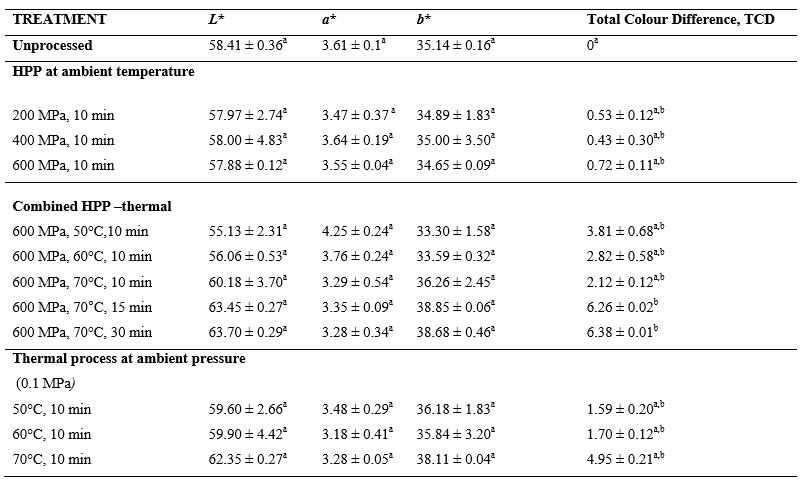
Fauz و همکاران(۲۰۱۴) اثر HPP بر کیفیت عسل یعنی فعالیت آنتی اکسیدانی، رنگ و ویسکوزیته را بررسی کردند. آنها عسل را در فشارهای مختلف 200 و 600 مگاپاسکال در دمای ۲۵ و ۳۳ درجه سانتیگراد و در ترکیب با دمای متوسط ۵۳ و ۷۴ درجه سانتیگراد برای مدت زمان ۱۰ الی ۳۰ دقیقه قرار دادند. در نبود حرارت، فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های تیمار شده با فشار بالا(۶۰۰ مگاپاسکال و 10 دقیقه) حدود ۳۰ درصد افزایش یافته بودند و هیچ تغییر رنگی مشاهده نشده بود. ترکیب تیمار HPP با حرارتی، هیچ اثر افزایشی در فعالیت آنتی اکسیدانی به خصوص در دمای بالاتر را نشان نداده بود، رنگ عسل در اثر ۱۵ دقیقه فرآوری در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به طور قابل توجهی تغییر کرده بود(جدول1). بنابراین آنها نتیجه گرفتند که کیفیت عسل می تواند با استفاده از HPP در دمای محیط افزایش یابد(27). Fauzi و همکاران(۲۰۱۴) اثرHPP را بر روی تشکیل رنگدانه های قهوه ای، فعالیت ضد باکتریایی و محتوای هیدروکسی فورفورال عسل مانوکا بررسی کردند. آنها عسل را تحت فشارهای مختلف 200 و 600 مگاپاسکال در دمای ۲۵ و ۳۳ درجه سانتیگراد و در ترکیب با دمای متوسط ۵۳ و ۷۴ درجه سانتیگراد برای مدت زمان ۱۰ الی ۳۰ دقیقه قرار دادند. تشکیل رنگدانه ها در نمونه های تحت فشار بالا یک افزایش معنی داری را نشان دادند، در حالی که حداکثر درصد مهار استافیلوکوک اپیدرمیدیس وقتی به دست آمد که تحت فشار ۶۰۰ مگاپاسکال در دمای محیط به مدت ۱۰ دقیقه در مقایسه با کنترل قرار گرفته بود. درصد مهارکنندگی نمونه های تحت فشار بالا به طور خطی با رنگ دانه های قهوه ای همبستگی داشت. تحت فشار بالا افزایش قابل توجهی در مقدار هیدروکسی متیل فورفورال مشاهده نشده بود. بنابراین پردازش عسل تحت فشار بالا اثر منفی بر کیفیت عسل ندارد. همچنین افزایش تشکیل رنگدانه های قهوه ای همراه با افزایش فعالیت ضد‌باکتریایی می باشد(27).



شکل 1: محتوای فنلی کل نمونه های عسل پس از تیمار با HPP در 600 مگاپاسکال، برای دماها و زمانهای مختلف نسبت به نمونه های فرآوری نشده. مقادیر میانگین ± انحراف معیار (3=n). گلوله در نمونه فرآوری شده نسبت به عسل فرآوری نشده.

تفاوت معنی داری دارد (05/0 p <).

جدول1: مقادیر L \*، a \*، b \* و تفاوت رنگ کلی (TCD) برای HPP، HPP ترکیب شده با حرارت و حرارتی عسل مانوکا



a، b مقادیر میانگین (یعنی ± انحراف استاندارد) درون همان ستون با حروف مختلف با توجه به آزمون HSD توکی (Statistica version 11، Statsoft®) بطور معنی داری با n = 2 متفاوت است.

بحث

فرآوری فشار بالای عسل می تواند یک جایگزین موثری برای پردازش حرارتی به منظور توسعه کیفیت غذایی باشد در حالی که عمر مفیدتر آنها را نیز حفظ می کند. بررسی ها نشان می دهند که HPP توانایی افزایش کل محتوای فنول، فعالیت آنتی اکسیدانی، رنگدانه های قهوه ای و ویسکوزیته را دارد. همچنین HPP می توانند فعالیت ضد باکتریایی را با یک روش موثر افزایش دهد که شامل کاهش زمان ذخیره سازی و هزینه می باشد. از آنجایی که ذخیره سازی وقت گیر و هزینه بر است(به خصوص اگر درجه حرارت کنترل شود)، در این مورد استفاده از HPP به نفع زنبورداران می باشد، زیرا می توانند فعالیت ضد باکتریایی را تنها در طی چند دقیقه فرآوری افزایش دهند و در نتیجه محصولاتی با قیمت و کیفیت بهتری را به دست آورند.

**Abstract**

Honey is a bio natural food product that has anti-oxidant and antimicrobial properties. The two thermal steps are used to process honey in the industry, which is to liquefy and pasteurize. Both steps are carried out at temperatures above 50 ° C or even above 77 ° C. Except for conventional treatments, modified heat treatment includes microwave heating, infrared heat and untreated treatments including ultrasound, ultraviolet, and membrane filtering to ensure the quality and health of honey. In this research, honey processing technologies and especially high pressure processing (HPP) techniques have been investigated and their effect on antioxidant and antimicrobial activity of honey has been investigated. Application of the HPP technique in Manuka honey increases the content of total phenol (TPC) by 47%, improves antioxidant activity, maintains color and maintains its mental state.

**Keywords**: high pressure processing, antioxidant activity, antimicrobial activity

**Refrences**

1. Li, X. and Farid, M. (2016). A review on recent development in non-conventional food sterilization technologies. Journal of Food Engineering, 182, 33-45.
2. Subramanian, R., Umeshhebbar, H. and Rastogi, N.K. (2007). Processing of honey: a review. International Journal of Food Properties, 10, 127-143.
3. Akhmazillah, M. F. N. (2014). Quality improvement of manuka hony through the application of eight pressure processing. Food and Bioprocess Technology, 7 (8), 2299-2307.
4. Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H. and Suzuki, N. (2001). Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. Food Chemistry, 75, 237–240.
5. Farid, M. M. (2010). Mathematical Modeling of Food Processing. New York: CRC Press.
6. Alvarez-Suarez, J., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. and Battino, M. (2010).Contribution of honey in nutrition and human health: a review. Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, 3(1), 15–23.
7. Ghani, A. G. and Farid, M. M. (2007). Numerical simulation of solid–liquid food

mixture in a high pressure processing unit using computational fluid dynamics.

Journal of Food Engineering, 80(4), 1031-1042.

1. Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R. and Gallmann, P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. Journal of the American College of Nutrition, 27(6), 667–689.
2. Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Gałkowska, D., Fortuna, T. and Witczak, T. (2011). Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. International Journal of Food Science and Technology, 46(3), 528–534.
3. Barbosa-Canovas, G. V and Bermude-Aguirre, D. (2011). Introduction Non-thermal processing technologies for food, IFT Press,UK: Wiley-BlackWell.
4. Pereira, R.N. and Vicente, A.A. (2010). Environmental impact of novel thermal and nonthermal technologies in food processing. Food Research International, 43, 1936–1943.
5. Tosi, E. A., Re, E. and Bulacio, L. (2004). Effect of honey high temperature short-time heating on parameters related to quality, crystallisation phenomena and fungal

inhibition. LWT- Food Science and Technology, 37(6), 669–678.

1. Wakhle, D.M. and Phadke, R.P. (1995). Design for Honey Processing Unit Part I. Indian Bee J, 57, 144–146.
2. Alvarez-Suarez, J., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E. and Battino, M. (2010).

Contribution of honey in nutrition and human health: a review. Mediterranean

Journal of Nutrition and Metabolism, 3(1), 15–23.

1. Hebbar, U.H., Nandini, K.E., Lakshmi, M.C. and Subramanian, R. (2003). Microwave and Infrared Heat Processing of Honey and its Quality. Food Sci. Technol. Res, 9, 49–53.
2. Ghazali, H.M., Ming, T.C. and Hashim, D.M. (1994). Effect of Microwave Heating on the Storage and Properties of Starfruit Honey. Asean Food J, 9, 30–35.
3. Krishnamurthy, K., H. K. Khurana, J. Soojin, J. Irudayaraj and A. Demirci. (2008). Infrared Heating in Food Processing: An Overview. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 7(1), 2-13.
4. Ipek, B. (2010). Effect of Ultrasound and High Hydrostatic Pressure (HHP) on Liquefaction and Quality Parameters of Selected Honey Varieties (pp. 1-107). Master of Science Theses. The Graduate School of Natural and Applied Sciences of Middle East Technical University.
5. D‟Arcy, B.R (2007). High-power Ultrasound to Control of Honey Crystallisation. Rural Industries Research and Development Corporation. ISSN 1440-6845.
6. Demirci, A. and Panico, L (2008). Pulsed Ultraviolet Light. Food Science and Technology International, 14 (5), 443-446.
7. Dunn J., Ott, T., and Clark, W. (1995). Pulsed light treatment of food and packaging. Food Technology, 49, 95- 98.
8. Hillegas, S. L. and Demirci, A. (2003). Inactivation of Clostridium sporogenes in clover honey by pulsed UV-light treatment. Agricultural Engineering International, V.Manuscript FP, 03 009.
9. Rivalain, N., Roquain, J., Demazeau, G. (2010). Development of high hydrostatic

pressure in biosciences: pressure effect on biological structures and potential applications in biotechnologies. Biotechnol. Adv, 28, 659-672.

1. Farid, M.M., 2006, Pressure assisted thermal sterilization or pasteurization methods

and apparatus, International Patent Application T/NZ 2006/000069.

1. Butz, P. (2010). High pressure: Minimal processing. In: Encyclopedia of Agricultural, Food, and Biological Engineering (pp. 819–822). New York: CRC Press.
2. Fauzi, N., M. Farid and Silva, F.V.M. (2014). High-Pressure Processing of Manuka Honey: Improvement of Antioxidant Activity, Preservation of Colour and Flow Behaviour. Food and Bioprocess Technology, 7(8), 2299-2307.