

بررسی خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی، محتوی فنلی و فعالیت ضد اکسایشی شیره ازگیل

زینب رفتنی امیری^{۱*}، نسترن اکبری^۲

۱- دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۲- دانشجوی دکتری علوم و صنایع غذایی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع ساری

(تاریخ دریافت: ۹۵/۰۴/۲۶ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۲/۲۷)

چکیده

میوه ازگیل بر روی برخی از سیستم های فیزیولوژیکی بدن مانند سیستم قلبی-عروقی اثرات سلامت بخش دارد. این اثرات مفید با حضور ترکیبات ضد اکسایشی موجود در میوه مرتبط است. میوه ازگیل ماندگاری کمی دارد، این امر سبب تولید محصولات مختلفی از میوه آن شده است. یکی از این محصولات، شیره ازگیل از فراورده های سنتی مناطق شمالی کشور می باشد. در این پژوهش، ابتدا خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی شیره ازگیل بررسی شد. سنجش میزان ترکیبات فنلی کل عصاره استونی شیره ازگیل به روش اسپکتروفتومتری انجام شد. سپس فعالیت ضد اکسایشی غلظت های مختلف عصاره با آزمون مهار رادیکال های آزاد دی فنیل پیکریل هیدرازیل مورد بررسی قرار گرفت و با آنتی اکسیدان سنتزی بوتیل هیدروکسی تولوئن مقایسه شد. نتایج نشان داد شیره ازگیل از کیفیت میکروبی خوبی برخوردار است. مقدار کل ترکیبات فنلی عصاره برابر با ۶۱ میلی گرم معادل اسید گالیک در ۱۰۰ گرم عصاره بود. غلظت ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر عصاره استونی شیره ازگیل بیشترین قدرت مهار رادیکال های آزاد را پس از آنتی اکسیدان سنتزی نشان داد ($P < 0/05$). بنابراین شیره ازگیل می تواند به عنوان منبع حاوی ترکیبات زیست فعال طبیعی با فعالیت بالای ضد اکسایش معرفی شود.

کلید واژگان: ترکیبات فنلی، شیره ازگیل، فعالیت ضد اکسایشی

* مسئول مکاتبات: zramiri@gmail.com

۱- مقدمه

ازگیل با نام علمی *Mespilus germanica* L. و از خانواده *Rosaceae*، درختی وحشی بوده که با حدود ۳-۲ متر رشد، در گروه درختان برگریز طبقه بندی می‌شود [۱]. این درخت بومی جنوب شرقی اروپا، آسیای صغیر، جنوب اوکراین، قفقاز و بخش‌های شمالی ایران و عراق می‌باشد [۲] و پراکنش جغرافیایی آن در ایران، در جنگل‌های شمال از ارسباران تا چناران (بجنورد)، در بلندی‌های کرانه‌های دریا در دامنه جنوبی البرز و مناطق استپی است [۳].

میوه‌های ازگیل به رنگ قهوه‌ای مایل به قرمز، نیمه کروی به شکل گلابی و سیب هستند، دارای قطر ۳-۱/۵ سانتی متر و وزن حداقل ۱۰ و حداکثر ۸۰ گرم می‌باشند [۴]. مرکز میوه ازگیل از دانه‌های گرد با رنگ متمایل به زرد تا قهوه‌ای پر شده و غشایی خاکستری تا زرد رنگ اطراف هسته مرکزی این میوه را در بر می‌گیرد. میوه ازگیل بسیار سخت و اسیدی است و تا زمانی که خوب رسیده نشود قابل خوردن نیست [۱]. ازگیل در ایران در اواخر پاییز و اوایل زمستان می‌رسد و معمولاً به صورت خام مصرف می‌شود [۵]. اما در سایر کشورها استفاده از ازگیل در تهیه مربا، مارمالاد، ژله، شربت، کنسرو [۴]، شور، شراب [۲] و بسیاری از دستورهای غذایی مرسوم می‌باشد. ازگیل به عنوان یک گیاه دارویی ارزشمند و یک گیاه سنتی در کشورهای آسیایی بسیار مورد توجه می‌باشد و از این گیاه در طب سنتی استفاده می‌کنند [۶]. از میوه ازگیل در درمان اسهال، سنگ‌های کلیه و مثانه [۷]، ورم و التهاب معده و روده، آبسه دهان و گلو، تب، برفک، سالک، آنژین و غیره [۸] در طب سنتی استفاده می‌شود.

پلی فنل‌ها ترکیبات متفاوتی از لحاظ ساختاری از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که دارای حلقه آروماتیک با یک و یا چند جایگاه تعویض هیدروکسیلی می‌باشند [۹]. ترکیبات فنلی دارای توان کاهندگی بوده و با نقش ضد اکسایشی خود، اثرات چشمگیری بر جذب و خنثی سازی رادیکال‌های آزاد در بدن دارند [۱۰]. از این رو غنی سازی مواد غذایی با این ترکیبات می‌تواند یکی از راهکارهای مناسب برای افزایش میزان ترکیبات ضد اکسایشی در بدن باشد، که با توجه به افزایش میزان آگاهی مصرف کنندگان از اثرات نامطلوب آنتی اکسیدان‌های سنتزی و افزایش تمایل به استفاده از آنتی اکسیدان‌های طبیعی، مطلوب می‌باشد [۱۱]. میوه ازگیل که منبع بسیار غنی

از ترکیبات فعال مثل فنل‌ها می‌باشد، به عنوان یکی از منابع اصلی تامین آنتی اکسیدان‌ها که می‌تواند در مقابل طیف گسترده‌ای از بیماری‌ها، از انسان محافظت نماید توجه بسیار زیادی را به خود معطوف نموده است. همچنین میوه ازگیل سرشار از ویتامین‌های ب و ث، تانن، سلولز، اسید سیتریک، اسید لینولئیک و پالمیتیک، آسپاراتات، گلوتامات و پتاسیم [۴]، اسیدهای مالیک، مالونیک، کوئینیک، سوکسینیک، فروکتوز، گلوکز، سوربیتول، پلی گالاکتوروناز و تیمین [۱۲] می‌باشد.

ممشلو و همکاران (۱۳۹۱) ویژگی‌های آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنولی کل استخراج شده از میوه ازگیل با استفاده از حلال‌های استون، متانول، اتانول ۸۰ درصد و آب را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج نشان داد بالاترین میزان ترکیبات فنولی و بیشترین فعالیت ضد اکسایشی با استون ۸۰ درصد و پس از آن با متانول، اتانول و آب حاصل شد [۵]. گراز و همکاران (۲۰۱۱) اثر درجه رسیدگی میوه ازگیل را بر محتوی فنلی و فعالیت ضد اکسایشی آن بررسی کردند و نشان دادند با افزایش درجه رسیدگی میوه، محتوی فنلی و به دنبال آن فعالیت ضد اکسایشی کاهش می‌یابد [۱۳].

میوه ازگیل نسبت به تجزیه، آسیب مکانیکی، افت رطوبت و مواد مغذی در طی نگهداری پس از برداشت حساس است [۱۴]. از مشکلات عمده کیفیت میوه ازگیل می‌توان به قهوه ای شدن بیش از اندازه آن به دلیل فعالیت بالای آنزیم پلی فنول اکسیداز و فساد به سبب رشد میکروارگانیسم‌ها تحت تاثیر محتوی قند و اسید بالای میوه، اشاره کرد [۲]. این امر سبب کاهش کیفیت تازه خوری این میوه می‌گردد و لزوم وجود صنایع تبدیلی جهت استفاده بهینه از این منبع غنی غذایی را نشان می‌دهد. البته باید به این امر توجه کرد که عواملی نظیر غلظت، دما و pH بر محتوی فنلی و به دنبال آن فعالیت ضد اکسایشی اثر منفی می‌گذارد [۱۵].

شیره ازگیل که در زبان مازندرانی به آن کُندِس دِشو نیز گفته می‌شود، یکی از فراورده‌های سنتی مناطق شمالی کشور است و با تغلیظ حرارتی عصاره میوه رسیده ازگیل بدست می‌آید. برای تهیه شیره ازگیل، ابتدا مقادیر زیادی از میوه ازگیل را پس از شستشو، با مقدار کمی آب می‌پزند، سپس میوه‌های پخته را در صافی قرار می‌دهند تا شیره آن کاملاً خارج شود و شیره تولیدی را تا رسیدن به غلظتی با بریکس ۴۰-۵۰ و رنگ آلبالویی تیره حرارت می‌دهند. بومی‌های مناطق شمالی از این

حجمی لین و آینون توسط محلول‌های فهلینگ تعیین گردید [۱۶].

۲-۲-۲- آزمون های میکروبی

شمارش کلی میکروارگانیسم های مزوفیل هوازی بر روی محیط کشت PCA1 در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و طی ۷۲ ساعت انجام شد [۱۸]، شمارش کلی مخمر و کپک بر روی محیط کشت DG182 در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و طی ۷-۵ روز انجام شد [۱۹] و بررسی لاکتیک اسید باکتری های مزوفیل بر روی محیط کشت MRS3 در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و طی ۷۲ ساعت انجام شد [۲۰] و نتایج با شمارش تعداد میکروارگانیسم ها به صورت CFUgr-1 گزارش گردید.

۲-۳- استخراج ترکیبات فنلی

برای استخراج ترکیبات فنلی شیره، از روش غرقابی در حلال استون ۸۰٪ (حجمی-حجمی) استفاده شد [۵، ۲۱]. ۱۰۰ میلی لیتر حلال به ۱۰ گرم شیره اضافه شده و مخلوط حاصله به مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر (ساخت ایران، فن آزما گستر) قرار داده شد. پس از این مرحله بخش جامد با استفاده از کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) جدا شد و عصاره استونی حاصل با استفاده از آون در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد تغلیظ شد. عصاره حاصل در سه تکرار تهیه شد و در همان روز، سنجش-ها انجام گرفت.

۲-۴- اندازه گیری میزان ترکیبات فنلی کل

مقدار ترکیبات فنلی کل با روش فولین-سیو کالتو اندازه گیری شد. در این روش ۰/۵ میلی لیتر عصاره (۱۰۰ گرم بر لیتر) با ۲/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیو کالتو ۰/۲ نرمال مخلوط گردید و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد. پس از آن ۲ میلی لیتر سدیم کربنات ۰/۷ مولار به محلول اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط و تاریکی نگهداری شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (ساخت آلمان، Analytikjena) در طول موج ۷۶۰ نانومتر در برابر نمونه شاهد قرائت گردید. برای تهیه نمونه شاهد به جای ۰/۵ میلی لیتر عصاره از ۰/۵ میلی لیتر متانول استفاده شد. برای

محصول به عنوان چاشنی و سس در کنار سایر غذاها و همچنین در درمان‌های خانگی استفاده می‌کنند.

نتایج بررسی کیم و پایداری (۲۰۰۴) بر روی اثر شرایط فرایند تهیه مربا بر محتوی فنولیک و ظرفیت ضد اکسایشی میوه‌هایی نظیر گیلاس، آلو و تمشک، نشان داد شرایط فراوری و حرارتی تهیه مربا سبب کاهش محتوی فنلی کل و ظرفیت ضد اکسایشی می‌گردد. بیشترین کاهش در مورد آنتوسیانین‌ها مشاهده شده بود و ۷۳٪ محتوی فنلی کل و ۶۵٪ ظرفیت ضد اکسایشی در محصول مربا حفظ شد [۱۶].

با وجود ویژگی‌های سلامتی بخش شیره میوه ازگیل، تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر بررسی خصوصیات آن در منابع علمی به دست نیامده است. از آنجا که ترکیبات فنلی یک فراورده غذایی گیاهی، علاوه بر ژنوتیپ و شرایط محیطی آن گیاه در حین رشد، به شرایط پس از برداشت و روش‌های فراوری آن نیز بستگی دارد [۱۳]، در این پژوهش، خصوصیات فیزیکوشیمیایی و میکروبی شیره ازگیل و همچنین ترکیبات فنلی و ظرفیت ضد اکسایشی آن مورد ارزیابی قرار گرفت.

۲- مواد و روش‌ها

شیره میوه ازگیل که از ازگیل‌های برداشت شده از مناطق جنگلی شهر ساری در فصل پاییز سال ۱۳۹۳ تولید شده بود، از بازارهای محلی شهر ساری تهیه گردید. مواد شیمیایی و محیط کشت‌های میکروبی با درجه خلوص بالا از شرکت‌های مرک و سیگما تهیه شدند.

۲-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی

محتوی رطوبت در دمای ۱۰۵ درجه سانتی گراد با استفاده از آون (ساخت آلمان، memert) (method 934.06)، خاکستر کل با استفاده از کوره الکتریکی (ساخت ایران، ایران خودرو ساز) در دمای ۵۵۰ درجه سانتی گراد (method 940.26)، مواد جامد محلول در آب با استفاده از دستگاه رفرکتومتر دیجیتالی (ساخت آلمان، DR201-95) (method 953.14)، اسیدیته کل به روش پتانسیومتری با استفاده از سود ۰/۱ نرمال (بر حسب اسید مالیک) و pH توسط pH متر (ساخت انگلستان، Jenway) (method 961.12)، بر اساس استاندارد AOAC (۱۹۹۵) اندازه گیری شدند [۱۷]. محتوی قند کل و محتوی قند احیا کننده با استفاده از روش

1. Plate Count Agar
2. Dichloran 18% mass fraction glycerol agar
3. Man, Rogosa and Sharpe (MRS) Agar

دانکن در سطح معنی داری ۹۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی

مقادیر برخی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی نمونه شیر ازگیل در جدول ۱ آمده است. محتوی اسیدیته بر حسب اسید مالیک که اسید غالب میوه ازگیل می‌باشد [۲۳] ۶/۰۳ گرم بر ۱۰۰ گرم شیر گزارش شد. گلو و همکاران (۲۰۰۳) اسیدیته میوه رسیده ازگیل را ۸۴۱ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم میوه تازه ارزیابی کردند [۲۴]. سلاک و ارکان (۲۰۱۵) محتوی پنج اسید اصلی میوه ازگیل را ۲/۸۳۵ گرم بر ۱۰۰ گرم میوه تازه گزارش نمودند [۲۱]. تفاوت این مقادیر با میزان اسیدیته شیر بدست آمده در این مطالعه را، می‌توان ناشی از دما و زمان زیاد تغلیظ در حین تولید شیر دانست که می‌تواند با افزایش میزان تبخیر آب سبب افزایش درصد اسیدیته در وزن مشخصی از نمونه گردد. همچنین هیدرولیز مواد قندی و پکتین ناشی از دما و زمان زیاد تغلیظ نیز می‌تواند سبب افزایش اسیدیته گردد [۲۵]. اسیدیته بالای این شیر از رشد میکروارگانیسم‌های ناشی از رطوبت بالای این فرآورده جلوگیری می‌کند. همچنین اسیدیته بالای شیر کاربرد آن را در فرآورده‌های نوشیدنی بر پایه میوه‌های اسیدی نظیر آلبالو و یا استفاده در نوشیدنی‌های اسیدی لبنی نظیر کفیر مطلوب می‌سازد. نتایج اندازه گیری قند، محتوی بالایی از قند احیا کننده را در برابر قند غیر احیا کننده در فرآورده نشان می‌دهد. سلاک و ارکان (۲۰۱۵) محتوی دو قند احیا کننده گلوکز و فروکتوز را در میوه ازگیل ۱۴/۲۶۵ میلی گرم بر ۱۰۰ گرم میوه تازه گزارش نمودند [۲۱]. فرایند تغلیظ در طی تولید شیر با هیدرولیز مواد قندی و پکتین می‌تواند سبب افزایش محتوی قند در شیر نسبت به میوه شود [۲۵]. نسبت محتوی قند احیا کننده با قند غیر احیا کننده در این محصول، تقریباً مشابه این نسبت در شیر خرما با بریکس ۷۰ می‌باشد [۲۶]. از این رو می‌توان این محصول را نیز همانند شیر خرما به دلیل شاخص گلاسمیک پایین مطلوب بیماران دیابتیک دانست.

رسم منحنی استاندارد، محلول اسید گالیک با غلظت‌های ۲۰، ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ قسمت در میلیون در متانول تهیه شدند و ۰/۵ میلی لیتر از این محلول‌ها به جای نمونه برداشته شد و بقیه مراحل طبق روش بالا ادامه یافت. با توجه به غلظت محلول‌های استاندارد و جذب‌های بدست آمده، منحنی استاندارد رسم شد. مقدار کل ترکیبات فنولیک از روی معادله خط رسم شده برای اسید گالیک، بر مبنای اسید گالیک به صورت میلی گرم در ۱۰۰ گرم عصاره بیان گردید [۷].

۲-۵- تعیین ظرفیت ضد اکسایشی

فعالیت ضد اکسایشی شیر ازگیل با اندازه گیری توانایی آن در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH^۱ به روش اسپکتروفوتومتری انجام گرفت. در این روش ۱ میلی لیتر از محلول متانولی ۰/۱ میلی مولار DPPH به ۳ میلی لیتر محلول عصاره و آنتی اکسیدان سنتزی BHT^۲ (غلظت‌های ۱۰-۱ میلی گرم بر میلی-لیتر) اضافه گردید. مخلوط حاصله به شدت هم زده و پس از آن به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید و نتایج به صورت درصد مهار رادیکال‌های DPPH با استفاده از معادله ۱ بیان شد [۲۲].

$$\text{درصد مهار رادیکال‌های آزاد} = \frac{(AC-AS)}{AC} \times 100$$

(۱)

که در این رابطه A_s و A_c به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند. نمونه کنترل حاوی ۳ میلی لیتر متانول به همراه ۱ میلی لیتر محلول DPPH بود.

۲-۶- تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. نمونه‌ها با سه تکرار مورد آزمون قرار گرفتند و نتایج حاصل با استفاده از روش آنالیز واریانس و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون

1. 2,2- diphenyl- 1- picrylhydrazyl
2. Butyl hydroxyl toluene

Table 1 Physicochemical characteristic of medlar syrup

| | Moisture (%) | Total soluble solids (%) | Ash (%) | Acidity (g/100g) | PH | Reducing sugars (g/100g) | Total sugar (g/100g) |
|---------------------|--------------|--------------------------|-----------|------------------|-----------|--------------------------|----------------------|
| Medlar syrup | 44.82±1.20 | 45±1 | 2.22±1.22 | 6.03±1.35 | 3.47±1.56 | 28.58±2.29 | 32.65±2.65 |

Values are means ± standard deviation of triplicate determinations

امکان فعالیت برخی از میکروارگانیسم های دیگر مانند مخمرها و کپک ها و برخی باکتری ها فراهم شده و باعث گسترش آلودگی میکروبی، کاهش ارزش غذایی و افزایش فلور میکروبی نمونه شیره خواهد شد [۲۵]. با اعمال شرایط نگهداری مناسب از جمله کاهش اکسیژن، می توان از رشد میکروارگانیسم های هوازی و رویشی شدن هاگ های احتمالی موجود و گسترش فعالیت حیاتی آن ها جلوگیری نمود.

ایرواندی و همکاران (۱۹۹۸)، در بررسی لواشک میوه درخت قهوه سودانی طی زمان نگهداری تعداد کل باکتری های مزوفیل و تعداد کپک ها و مخمر ها را به ترتیب 60 CFUgr^{-1} و 40 CFUgr^{-1} گزارش نمودند [۲۷]. ناکتان و همکاران (۲۰۱۳) در بررسی تغییرات شربت قندی نخل طی دوره نگهداری تعداد کل بار میکروبی و تعداد کپک ها و مخمر ها را کمتر از 10 CFUgr^{-1} و تعداد مخمر های اسموپلیک را 40 CFUgr^{-1} گزارش نمودند [۲۸]. کوشین و لامب (۲۰۰۵) گزارش کردند که میوه ازگیل به سبب حضور اسید های آلی نظیر اسید گالیک و همچنین حضور ترکیبات فنلی دارای خواص ضد میکروبی است [۶]. مکانیسم فعالیت ضد میکروبی عصاره مربوط به واکنش ترکیبات فنلی با پروتئین غشاء سلول های میکروبی و رسوب آن ها و مهار آنزیم ترانسفراز گلیکوزیل بوده که در نهایت منجر به تحلیل غشای سلول های میکروبی می شود [۲۹].

۳-۲- ارزیابی میکروبی

با توجه به میزان رطوبت و اسیدیته شیره ازگیل، امکان رشد میکروارگانیسم های متعددی فراهم می باشد. شیره ازگیل حاوی ترکیبات قندی و سایر ترکیبات قابل تجزیه و تخمیر می باشد که شرایط را برای رشد مخمر ها و کپک ها در فرم های مختلف حیاتی به ویژه هاگ فراهم می نماید. بیشتر فرم های رویشی مخمر ها و کپک ها در حرارت های کمی بالاتر از ۵۰ درجه سانتیگراد غیر فعال شده یا از بین می روند، اما باید دانست با به کار بردن حرارت های بالاتر از ۵۰ درجه سانتیگراد طی تهیه شیره ازگیل امکان وجود هاگ این میکروارگانیسم ها که در پاره ای از موارد تا ۳۵۰ درجه سانتیگراد نیز در برابر فرایند های حرارتی از خود مقاومت نشان می دهند، محتمل است [۲۵]. نتایج آزمون شمارش کپک و مخمر در جدول ۲ نشان داد که شیره ازگیل از کیفیت میکروبی خوبی از این نظر برخوردار بوده است. باکتری های اسید لاکتیک به طور معمول قادرند تحت شرایط مناسب به ویژه در حضور قند ها با انجام تخمیر به صورت هموفرماتیو و یا هتروفرماتیو باعث تولید اسید لاکتیک شوند. به همین دلیل وجود این نوع باکتری ها در مواد غذایی دارای ترکیبات قندی و اسیدی، بسیار معمول است. جدول ۲ تعداد این باکتری ها در هر گرم از شیره ازگیل را نشان می دهد که در حد مجاز بوده است. یکی از اثرات مهم این باکتری ها، تغییر اسیدیته موثر است که تحت اثر این تغییر و تولید اسید اولیه

Table 2 microbiological count of medlar syrup

| | mesophyllic aerobes bacteria count (CFUgr ⁻¹) | yeast and moulds count (CFUgr ⁻¹) | mesophilic Lactic acid Bacteria count (CFUgr ⁻¹) |
|---------------------|---|---|--|
| Medlar syrup | 50±4 | 6±1 | 10±2 |

Values are means ± standard deviation of triplicate determinations

نشان می دهد. در این تحقیق میزان ترکیبات فنلی کل عصاره استونی ۸۰٪ شیره ازگیل، بر اساس معادله خط بدست آمده از منحنی استاندارد اسید گالیک () $Y=1.6507X+0.0334$ ، $(R^2=0.9935)$ ، 0.005 ± 61 میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره محاسبه شد. سلاک و ارکان (۲۰۱۵) محتوی فنلی

۳-۳- مقدار ترکیبات فنلی کل

روش فولین-سیو کالتو از متداول ترین روش های اندازه گیری ترکیبات فنلی می باشد. اساس کار در این روش، احیا معرف فولین توسط ترکیبات فنلی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ۷۶۰ نانومتر

یابد. ممشلو و همکاران (۱۳۹۱) برای عصاره استونی میوه ازگیل با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر فعالیت ضد اکسایشی به میزان ۸۰٪ را گزارش نمودند [۵]. فعالیت ضد اکسایشی با محتوی فنلی رابطه مستقیم دارد [۱۳]. بنابراین تفاوت فعالیت مهارکنندگی سنجیده شده شیره ازگیل با میوه تازه ازگیل می تواند به دلیل از دست رفتن مقادیری از محتوی فنلی در طی فرایند حرارتی تهیه شیره باشد. بررسی پایداری حرارتی ترکیبات فنلی و فعالیت ضد اکسایشی میوه ازگیل توسط ممشلو و همکاران (۱۳۹۱) نشان داد با افزایش دما تا ۵۰ درجه سانتی گراد تغییر قابل توجهی در فعالیت ضد اکسایشی مشاهده نمی شود، و در ۱۰۰ درجه سانتی گراد میزان فعالیت تا ۷۶٪ کاهش می یابد؛ اما این کاهش پس از حتی ۲ ساعت نیز در این سطح باقی می ماند [۵].

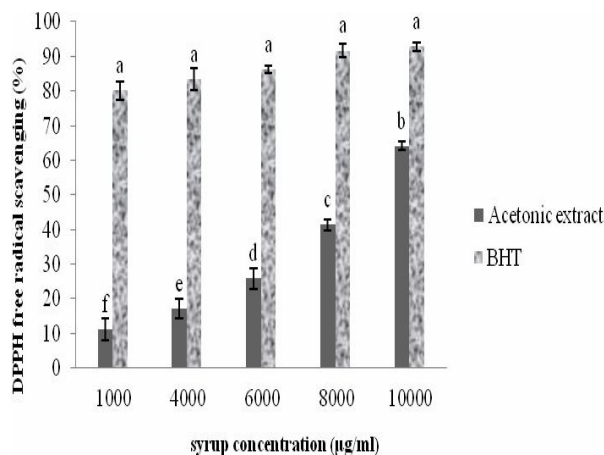


Fig 1 Compare the average value of DPPH free radical scavenging of various medlar extract and BHT.

۴- نتیجه گیری

میوه ازگیل منبع غنی از ترکیبات فعال مانند فنل ها و اسیدهای آلی است که با فعالیت ضد اکسایشی بالای خود سبب کاهش ابتلا به بیماری های قلبی و عروقی می شود. در این مطالعه شیره ازگیل که از تغلیظ حرارتی عصاره ازگیل حاصل می شود مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی های فیزیکوشیمیایی و میکروبیولوژیکی شیره ازگیل نشان دهنده کیفیت قابل قبول آن با اسیدیته و قند کل بالا و جمعیت میکروبی حداقل بوده است. بررسی ترکیبات فنلی به روش فولین-سیو کالتو و فعالیت ضد اکسایشی به روش مهار رادیکال های آزاد DPPH نشان داد شیره ازگیل نیز همانند میوه آن یک منبع مطلوب از نظر

عصاره استونی میوه های ازگیل را ۵۶۱/۰۱ میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره گزارش نمودند [۲۱]. همچنین قربانلی و همکاران (۱۳۹۰)، محتوی فنلی عصاره متانولی و اتانولی میوه ازگیل را به ترتیب ۱۶۷/۳۷ و ۱۵۷/۳۷ میلی گرم گالیک اسید در ۱۰۰ گرم عصاره گزارش نمودند [۳۰]. میزان ترکیبات فنلی تحت تاثیر عوامل متعددی نظیر غلظت، دما، نور و pH می باشند [۱۵]. کاهش محتوی فنلی شیره ازگیل نسبت به میوه تازه را می توان ناشی از فرایند آماده سازی (پوست گیری، آنزیم بری و غیره)، فراوری حرارتی در دمای بالا و شرایط نگهداری دانست که همگی می توانند سبب کاهش شدید محتوی فنلی گردند [۳۱]. کیم و پادیل (۲۰۰۴) نشان دادند محتوی فنلی کل در طی فرایند تهیه مربا نسبت به میوه تازه به میزان ۹٪ در مربای گیلاس و تا ۲۷٪ در مربای آلو، کاهش یافت [۱۶].

۳-۴- فعالیت ضد اکسایشی

شکل ۱ میزان فعالیت ضد اکسایشی و یا به عبارتی درصد کاهش در میزان جذب محلول های DPPH در حضور عصاره نسبت به محلول DPPH فاقد عصاره استونی شیره ازگیل را نشان می دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که غلظت های مختلف عصاره شیره ازگیل و نیز آنتی اکسیدان سنتزی تاثیر معنی داری بر مهار رادیکال آزاد DPPH دارد ($P < 0.05$). فعالیت ضد رادیکالی در عصاره و نیز در آنتی اکسیدان سنتزی وابسته به غلظت می باشد. آنتی اکسیدان سنتزی BHT در همه غلظت ها فعالیت ضد رادیکالی بالاتری نسبت به عصاره داشت. عصاره نیز در غلظت های بالاتر فعالیت ضد رادیکالی بیشتری نسبت به غلظت های پایین تر نشان داد. این امر به دلیل افزایش محتوی ترکیبات فنلی در غلظت های بالاتر می باشد زیرا در این حالت با افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهدای هیدروژن به رادیکال های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می یابد. در واقع اساس این روش بر پایه مهار رادیکال های آزاد توسط آنتی اکسیدان های موجود در عصاره و بی رنگ شدن محلول DPPH است [۷]. نتایج تحقیق حاضر با نتایج آلوتمن و همکاران (۲۰۰۹) [۳۲] و نبوی و همکاران (۲۰۱۱) [۷]، همخوانی داشت. این محققین گزارش نمودند که فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره های گیاهی وابسته به غلظت است و با افزایش غلظت اثر مهارکنندگی شدت می -

- [6] Cushnie, T., Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26(5): 343-356.
- [7] Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Ebrahimpzadeh, M. A., Asgarirad, H. (2011). The antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit, stem bark and leaf. *African Journal of Biotechnology*. 10(2): 283-289.
- [8] Habibi Bibalani, G., Mosazadeh-Sayadmahaleh, F. (2011). Medicinal benefits and usage of medlar (*Mespilus germanica*) in Gilan Province (Roudsar District), Iran. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(7): 1155-1159.
- [9] Gulcin, I., Topal, F., Sarkaya, S.B.O., Buesal, E., Bilsel, G. Goren, A.C. (2011). Polyphenol contents and antioxidant properties of medlar (*Mespilus germanica* L.). *Records of Natural Products*. 5(3): 158-75.
- [10] Dolatabadi, M., Raftani Amiri, Z., Esmaeilzadeh Kenari, R. (1393). Comparison of total phenols and antioxidant properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk of three regions of northern Iran (Shahrood, Bandar Gaz and Hzargarib). *Journal of food science and technology*. 45(11): 183-192.
- [11] Al-Farsi, M.A., Lee, C.Y. (2008). Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*. 108: 977-985.
- [12] Baird, J. R., Thieret, J.W. (1989). The medlar (*Mespilus germanica*, Rosaceae) from antiquity to obscurity. *Journal of Economic Botany*. 43(3): 328-372.
- [13] Gruz, J., Ayaz, F. A., Torun, H., Strnad, M. (2011). Phenolic acid content and radical scavenging activity of extracts from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit at different stages of ripening. *Food Chemistry*. 124: 271-277.
- [14] Ding, C.K., Chachin, K., Ueda, Y., Imahori, Y., Wang, C.Y. (2002). Modified atmosphere packaging maintains postharvest quality of loquat fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 24: 341-348.
- [15] Gazzani, G., Papetti, A., Massolini, G., Daglia, M. (1998). Antioxidative and pro-oxidant activity of water soluble components of some common diet vegetables and the effect of thermal treatment. *Food Chemistry*. 6: 4118-4122.

ترکیبات فنلی و آنتی اکسیدان‌های طبیعی می‌باشد. تفاوت بین محتوی فنلی و قدرت ضد اکسایشی میوه و شیره ازگیل را می‌توان به سبب از دست رفتن مقادیری از محتوی فنلی در طی فرایند حرارتی تهیه شیره دانست. به این ترتیب شیره ازگیل را نیز می‌توان به طور بالقوه به عنوان یک غذای عملگرا و یا یک افزودنی مغذی عملگرا به شمار آورد. استفاده از شیره ازگیل در فراورده‌های نوشیدنی بر پایه میوه‌های اسیدی تیره رنگ نظیر آلبالو، استفاده در انواع مربا، مارمالاد، سس و ترشی و یا در محصولات غذایی که در آنها به دلیل حضور چربی‌ها احتمال اکسیداسیون وجود دارد، می‌تواند از جمله کاربردهای بهینه این فراورده باشد که نیاز به بررسی‌های بیشتری در این زمینه دارد. امید است ارائه دلایل علمی و مستند در این مطالعه با جلب توجه پژوهشگران حوزه صنعت غذا به تجاری سازی محصولات تولید شده از این شیره کمک نماید.

۵- منابع

- [1] Ozcan, M., Haciseferogullari, H., Sonmete, M. H., Ozbek, O. (2005). Physical and chemical parameters of wild medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit grown in Turkey. *Journal of Food Engineering*. 69: 1-7.
- [2] Dincer, B., Colak, A., Aydin, N., Kadioglu, A., Guner, S. (2002). Characterization of polyphenoloxidase from medlar fruits (*Mespilus germanica* L., Rosaceae). *Food Chemistry*. 77: 1-7.
- [3] Potter, D., Eriksson, T., Evans, R.C., Oh, S., Smedmark, J., Morgan, D.R. (2007). Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution*. 266(1-2): 5-43.
- [4] Ayaz, F.A., Demir, O., Torun, H., Kadioglu, Y., Colak, A. (2008). Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. *Food Chemistry*. 106: 291-298.
- [5] Mamashloo, S., Sadeghi Mahoonak, A., Ghorbani, M., Alami, M., Khomeiri, M. (1391). The evaluation of antioxidant properties and stability of phenolic compounds from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit. *Journal of research and innovation in food science and technology*. 1(3): 219-228.

- (Lavashak), Iranian Food Science and Technology Research Journal. 7(4): 324-329.
- [26] Khalafy, R., Goli, S.A. H., Behjatian Isfahani, M. (1395). Evaluation of physicochemical properties and antioxidant activity of 10 different botanical honeys. Journal of food science and technology. 51(13): 51-63.
- [27] Irwandi, J., Che Man, Y.B., Yusof, S., Jinap, S., Sugisawa, H. (1998). Effects of type of packaging materials on physicochemical, microbiological and sensory characteristics of durian fruit leather during storage. Journal of the Science of Food and Agriculture. 76: 427-434.
- [28] Naknean, P., Meenune, M., Roudaut, G. (2013). Changes in properties of palm sugar syrup produced by an open pan and a vacuum evaporator during storage. International Food Research Journal. 20(5): 2323-2334.
- [29] Ismail, T., Sestili, P., Akhtar, S. (2012). Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. Journal of Ethnopharmacology. 143: 397-405.
- [30] Ghorbanli, M., Livani, F., Sateei, A. (1388). Antioxidant activity and phenolic compounds from medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit. Journal of investigation and application of medical plants. 2(2): 31-43.
- [31] Rababah, T. A., Al-Mahasneh, M., Kilani, I., Yang, W., Alhamad, M., Ereifej, K. (2011). Effect of jam processing and storage on total phenolics, antioxidant activity, and anthocyanins of different fruits. Journal of Science and Food Agricultural. 91: 1096-1102.
- [32] Alothman, M., Bhat, R. Karim, A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. Food Chemistry. 115: 785-788.
- [16] Kim, D.O., Padilla-zakour, O.I. (2004). Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: cherry, plum, and raspberry. Journal of Food Science. 69(9): 395-400.
- [17] AOAC. (1995). Official Methods of Analysis, 16th Edition. Association of official analytical chemists Inc. Arlington, VA.
- [18] Iran National Standard. (2015). Horizontal method for the enumeration of microorganisms. No. 5272- 1. Iran Standard and Industrial Research Institute.
- [19] Iran National Standard. (2008). Horizontal method for the enumeration of yeasts and moulds. No. 10899- 2. Iran Standard and Industrial Research Institute.
- [20] Iran National Standard. (2010). Enumeration Of mesophilic Lactic acid Bacteria in food stuffs - colony count Technique at 30°C. No. 4721. Iran Standard and Industrial Research Institute.
- [21] Selcuk, N., Erkan, M. (2015). The effects of 1-MCP treatment on fruit quality of medlar fruit (*Mespilus germanica* L. cv. Istanbul) during long term storage in the palliflex storage system. Postharvest Biology and Technology. 100: 81-90.
- [22] Arabshahi-Delouee, S., Urooj, A. (2007). Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry. 102: 1233-1240.
- [23] Vasco, C., Ruales, J., Kamal-Eldin, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. Food Chemistry. 111: 816-823.
- [24] Glew, R.H., Ayaz, F.A., Sanz, C., VanderJagt, D.J., Huang, H.S., Chuang, L.T. (2003). Changes in sugars, organic acids and amino acids in medlar (*Mespilus germanica* L.) during fruit development and maturation. Food Chemistry. 83: 363-369.
- [25] Radmard Qadiri, Q., Kalbasi Ashtari, A. (1390). Chemical and biological characteristics of apples fruit leather

Evaluation of physicochemical and microbiological properties, antioxidant activities and phenolic Compounds of medlar (*Mespilus germanica* L.) syrup

Raftani Amiri, Z. ^{1*}, Nastaran Akbari²

1. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.
2. PhD student, Department of Food Science and Technology, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran.

(Received: 2016/07/17 Accepted:2017/05/17)

Medlar fruit (*Mespilus germanica* L.) has several health effects on the some certain physiological systems of the body, such as the cardiovascular. These effects are connected with the presence of antioxidants compounds. The shelf life of Medlar fruit is short, so different products are produced from its fruit. One of these products is medlar syrup, which is a traditional product in northern regions of the Iran. In this research, first physicochemical and microbiological properties of medlar syrup were measured. Then total phenolic contents of acetonic extract of medlar syrup were measured by spectrophotometer and antioxidant activity of different concentration of extracts were assessed by diphenyl picrylhydrazyl radical-scavenging activity and compared with synthetic antioxidant butylated hydroxyl toluene (BHT). On the basis of the results of this study, medlar syrup showed good microbial quality. Total phenolic contents of medlar syrup were 61 mg GAE/100gr extract. Acetonic extract of medlar syrup at concentration of 10 mg/ml, displayed the highest free radical-scavenging activity ($P>0.05$), after BHT. Therefore, medlar syrup can be introduced as a source of natural bioactive compounds with high antioxidant activity.

Keywords: Phenolic compounds, Medlar Syrup, Antioxidant activity

*Corresponding Author E-Mail Address: zramiri@gmail.com