



بررسی اثر گرده گل جمع آوری شده توسط زنبور عسل بر ترکیبات زیست فعال، خواص آنتی

اکسیدانی و ماندگاری کیک بدون گلوتن

فاطمه جلیلی<sup>۱</sup>، سیدهادی پیغمبردوست<sup>۱\*</sup>، صمد بدبدک<sup>۲</sup>، عارف اولادغفاری<sup>۳</sup>

۱- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز.

۲- گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز.

۳- پژوهشکده غذایی و کشاورزی، پژوهشگاه استاندارد، تبریز، تبریز.

## چکیده

## اطلاعات مقاله

امروزه گرده زنبورعسل به عنوان ماده افزودنی سلامت محور و غنی از مواد مغذی با خواص آنتی اکسیدانی مطلوب مورد توجه می باشد. کیک بدون گلوتن برای طیف خاصی از افراد با عوارض عدم تحمل به گلوتن مفید است. در این پژوهش اثر افزودن گرده گل در درصدهای مختلف (صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ درصد w/v) به فرمولاسیون کیک بدون گلوتن بر ویژگی های کیفی، ترکیبات زیست فعال و ماندگاری کیک مطالعه شد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین ها به ترتیب به روش ANOVA و آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش درصد گرده زنبورعسل مقدار ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و نیز فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه ها در روز پس از پخت به طور معنی داری ( $P < 0.05$ ) نسبت به نمونه کنترل افزایش یافت. بطوری که ترکیبات فنولی از ۲/۷۹ به ۱۱/۸۳  $\text{mg GAE g}^{-1}$  قدرت مهار رادیکال های آزاد از ۱۷/۸ به ۲۵/۸ درصد، و مقدار ترکیبات فلاونوئیدی از ۰/۳۱۶ به ۰/۴۵۰  $\text{mg RUE g}^{-1}$  در تیمارهای غنی شده با گرده گل در مقایسه با نمونه کنترل افزایش یافت. بررسی سفتی بافت کیک در دو دمای محیط و یخچال انجام شد. با افزایش درصد گرده گل، سفتی بافت مغز نمونه های کیک نگهداری شده در دمای محیط با گذشت زمان کاهش یافت. کمترین و بیشترین مقدار سفتی برابر با ۰/۱۶ N و ۰/۲۰ N در روز ۱۴ام نگهداری محصول در دمای محیط به ترتیب مربوط به نمونه ۱۵ و ۳ درصد گرده بدست آمد. اما نگهداری در دمای یخچال باعث سفت تر شدن نمونه های کیک با افزایش درصد گرده در طی زمان گردید و بیشترین سفتی (۰/۲۳۰ N) در روز ۱۴ام نگهداری مربوط به نمونه ۱۵ درصد گرده بود. افزایش مقدار گرده به ۱۵ درصد باعث کاهش اندیس روشنی (L) از ۶۱/۷ به ۵۰، افزایش اندیس قرمزی (a) از ۷/۰۰- به ۲/۳۳- و اندیس زردی (b) از ۳۹ به ۴۸ گردید. افزودن گرده گل بطور معنی داری باعث افزایش قابلیت ماندگاری کیک های غنی شده در یخچال گردید. بطوریکه نمونه کنترل و نمونه حاوی ۱۵ درصد گرده گل به ترتیب کمترین و بیشترین مقاومت در مقابل کپک زدگی را ارائه کردند. بیشترین ماندگاری کیک مربوط به روز ۴۲ام برای کیک حاوی ۱۵ درصد گرده گل بدست آمد. کیک های حاوی ۶ درصد گرده گل بهترین خواص فیزیکی و بالاترین امتیاز حسی را بخود اختصاص دادند، لذا تیمار مزبور به عنوان مطلوب ترین نمونه معرفی گردید.

تاریخ های مقاله :

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۷/۲۴

کلمات کلیدی:

سفتی بافت،

ترکیبات فنولی،

فلاونوئیدی،

درصد مهار رادیکال های آزاد،

گرده گل.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.371  
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.28.7

\*مسئول مکاتبات:

peighambardoust@tabrizu.ac.ir

## ۱- مقدمه

غذاهای فراسودمند یا عملگرا محصولاتی هستند که به صورت بالقوه دارای خواص مفید و کمک‌کننده به سلامتی انسان باشند، مهم‌ترین اثرهای قابل ذکر برای این مواد غذایی شامل ارتقای سیستم ایمنی، ارایه خصوصیات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهاب بودن، سمیت‌زدایی و از همه مهم‌تر خواص سلامت‌بخشی می‌باشند [۱]. در واقع غذاهای فراسودمند، غذاهایی شبیه غذاهای متعارف و معمولی هستند اما زمانیکه به عنوان بخشی از رژیم غذایی مصرف می‌شوند، مزایای فیزیولوژیک از خود نشان می‌دهند و علاوه بر خواص تغذیه‌ای پایه، در کاهش خطر ابتلا به بیماری‌های سخت و مزمن هم مؤثرند [۲]. مهم‌ترین مواد غذایی که برای بررسی خصوصیات عملگرایی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند، ترکیبات فنولیک با منشأ گیاهی، باکتری‌های پروبیوتیک، فیبرها و سایر کربوهیدرات‌ها با قابلیت هضم‌پذیری پایین می‌باشند [۳]. بیماری سلولیک اختلال خودایمنی روده باریک با زمینه ژنتیکی است. در این بیماری گوارشی پرزهای روده باریک آسیب دیده و جذب موادغذایی اختلال دارد. در صورتی که بیماران مبتلا به سلولیک پروتئینی از دسته گلیادین که در برخی از غلات مانند گندم، جو، چاودار و گاه جوی دوسر وجود دارد را مصرف کنند، دچار علائم عدم تحمل می‌شوند. با مصرف گلوتن در این افراد، روده کوچک دچار التهاب شده و باعث آسیب به مخاط روده و اشکال در جذب مواد مغذی می‌شود [۴]. کیک نوعی شیرینی با بافت نرمی به خصوص با منشأ اروپایی است که در میان گروه‌های سنی مختلف، از محبوبیت بالایی برخوردار است. در تهیه آن معمولاً چهار ماده اصلی آرد، شکر، تخم مرغ و کره هم‌زده شده و پس از درآمدن به حالت اسفنجی پخته می‌شوند [۵]. به علت استفاده از مواد اولیه‌ای نظیر مواد نشاسته‌ای، کیک‌های بدون گلوتن از لحاظ مواد معدنی و پروتئین‌ها و فیبرهای رژیمی دارای کمبود بوده و ارزش تغذیه‌ای پایینی دارند.

گرده گل جمع آوری شده توسط زنبور عسل از آگلوتینه شدن گرده گل‌ها با شهد و بزاق زنبور عسل به دست می‌آید و پس از ذخیره در کیسه گرده واقع در بند سومپای زنبور عسل، در هنگام ورود زنبور عسل به درون کندو در تله گرده که توسط زنبوردار در آنجا تعبیه شده جمع‌آوری می‌گردد [۶] (شکل ۱). در مطالعه ای توسط مورایس و همکاران [۷] ترکیبات فنلی

کل و فلاونوئیدهای هشت نوع گرده‌ی زنبور عسل تجاری بدست آمده از گل‌ها و نواحی مختلف جغرافیایی شاخص‌اسید تیوباربتوریک (TBARS)<sup>۱</sup> و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های DPPH<sup>۲</sup> قابل توجهی را از خود نشان دادند. کرویر و هگدوس [۸] نشان دادند با افزایش ترکیبات فنلی گرده گل، ویژگی آنتی‌اکسیدانی و مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد. کونته و همکاران [۹] به بررسی اثرات فیزیکی شیمیایی، تکنولوژیکی و حسی نان‌های بدون گلوتن غنی‌شده با گرده زنبور عسل پرداختند. افزودن سطوح مختلف گرده زنبور عسل به‌طور معنی داری باعث بهبود ویژگی‌های تکنولوژیکی نان‌های تولیدی نظیر حجم، بافت، رنگ مغز و پوسته و یکنواختی حباب‌های بافت نان گردید. از لحاظ سختی نان‌های حاوی گرده زنبور عسل نسبت به نمونه کنترل نرم‌تر بوده و در طول زمان به‌طور آهسته‌تری پدیده بیاتی در آن‌ها رخ داده بود. کریستیان و همکاران [۱۰] در پژوهشی به بررسی ویژگی‌های فیزیکی شیمیایی و آنتی‌اکسیدانی بیسکویت‌های غنی‌سازی شده با گرده گل زنبور عسل، با هدف استفاده از کاربرد بالقوه گرده به عنوان یک مکمل غذایی، پرداختند. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که افزودن گرده زنبور عسل در محتوای چربی بیسکویت‌ها بی‌تأثیر بوده اما به‌طور معناداری ( $p < 0.05$ ) بر میزان قند، پروتئین، خاکستر، فیبر، ترکیبات پلی-فنولی و آنتی‌اکسیدانی دارای تأثیر مثبت بوده است و منجر به افزایش پارامترهای ذکر شده گردیده است. بیسکویت‌های حاوی گرده در مقایسه با بیسکویت کنترل (بدون گرده) دارای سطح تیره‌تری بودند همچنین نتایج نشان داد که در سطح ۵٪ گرده طعم بیسکویت‌ها هم‌پوشانی بالایی با نمونه کنترل دارد. طبق نتایج آلمیدا-مرادیان و همکاران [۱۱] اثرات درمانی و محافظتی گرده زنبور عسل بر فعالیت‌های مختلف بیولوژیکی مربوط به وجود پلی‌فنول‌ها بوده است. گرده زنبور عسل به عنوان یک ترکیب غذایی با منشأ طبیعی می‌تواند به عنوان یک افزودنی فراسودمند در تولید و غنی‌سازی فراورده‌های غذایی مختلف مورد استفاده قرار گیرد. در پژوهش‌های قبل، افزودن گرده گل به محصولاتی نظیر سوسیس یا بیسکویت مورد بررسی قرار گرفته که تولید این محصولات در سطح خانگی با دشواری همراه است. لذا وجه تمایز کار پژوهشی حاضر در این است که کیک محصولی است که براحتی در منزل پخت

1. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)  
2. 2, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

بیکیکنگ پودر<sup>۳</sup>(شرکت هرمین، ایران)، وانیل پودری<sup>۴</sup>(شرکت Polar Bear، چین)، پودر شکر (بازار محلی)، تخم مرغ تازه (شرکت عصاره طلائی تبریز (زردینه)، ایران)، صمغ زانتان<sup>۵</sup> خوراکی (شرکت رودیا فود، فرانسه)، صمغ گوار<sup>۶</sup> خوراکی (شرکت رودیا فود، فرانسه) و گرده زنبور عسل (بازار محلی) تهیه شد (برای تمامی آزمایش‌ها فقط از گرده با ترکیبات بیان شده در زیر استفاده گردید). ترکیب شیمیایی گرده گل زنبور عسل و نشاسته ذرت مورد استفاده در این پژوهش در جدول شماره ۱ آورده شده است:

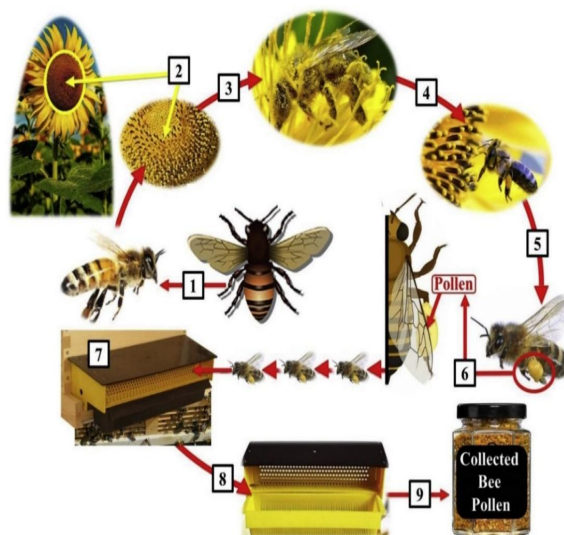
**Table 1** Chemical composition of honey bee pollen and corn starch used

Corn starch	Bee pollen	Compounds
11.50 ± 0.07	16.54 ± 0.06	Moisture
0.13 ± 0.001	4.68 ± 0.13	Ash
0.32 ± 0.03	11.23 ± 0.13	Fat
0.65 ± 0.05	31.62 ± 0.13	Protein
87.40 ± 3.52	35.93 ± 1.25	Carbohydrates

## ۲-۲- پخت کیک

برای تهیه خمیر کیک از روش کرم کردن استفاده شد. اجزاء تشکیل دهنده فرمولاسیون نمونه‌های کیک در جدول ۲ آورده شده است [۱۲]. تفاوت نمونه کنترل با تیمارها فقط در مقدار افزودن گرده گل است که در جدول ۲ آورده شده است. البته قوام خمیر با توجه به مقادیر افزودن گرده گل متفاوت بوده که برای جبران آن درصد آب در فرمول با افزایش درصد گرده گل افزایش یافته است. برای تهیه خمیر ابتدا روغن به همراه پودر شکر با همزن برقی (۳۰۶۷، Clatronic KM ساخت کشور آلمان) با سرعت زیاد به مدت ۱۰ دقیقه مخلوط شدند. بعد از آن تخم مرغ کم کم به مایع کیک افزوده شد و عمل همزدن به مدت ۵ دقیقه دیگر ادامه یافت تا یک کرم یکدست حاوی حباب های هوا ایجاد گردد [۱۳]. نشاسته ذرت، شیرخشک، بیکیکنگ پودر، وانیل، صمغ‌های زانتان و گوار پس از توزین باهم مخلوط و الک شدند. سپس نشاسته و سایر مواد خشک که باهم مخلوط شده بودند به صورت تدریجی به مایع کیک افزوده شد و توسط قاشق همزده شد. گرده زنبور عسل در سطوح (صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ درصد (w/v)) به فرمولاسیون کیک بدون گلوتن برپایه نشاسته ذرت اضافه گردید.

شده و مواد آن در دسترس و مورد پسند سنین مختلف می باشد. بنابراین بخاطر راحتی کاربرد، تقاضای فراوان و بازاری پستی که دارد، تمرکز روی فراسودمند کردن این محصول، به عنوان تنقلات یا بخشی از غذای اصلی بیماران سلیاکی و افراد معمولی مفید به نظر می‌رسد. از طرفی هدف این پژوهش، نه تنها، تولید محصول در دسترس، فراسودمند و قابل مصرف برای بیماران سلیاکی است بلکه، عطر و طعم گرده گل، ایجاد طعم جدیدی در صنعت غذایی می‌باشد. لذا هدف از انجام این پژوهش، افزودن مقادیر مختلف گرده- زنبور عسل به فرمولاسیون کیک بدون گلوتن بر پایه نشاسته ذرتو بررسی ویژگی‌های زیست فعال آن در روز پس از پخت، بررسی سفتی کیک در طی نگهداری در دو دمای محیط و یخچال، بررسی کپک زدگی در طی نگهداری در دمای یخچال و ارائه فرمولاسیونی مناسب برای تولید محصول با کیفیت می‌باشد.



**Fig 1** Stages of bee pollen collection by honey bees: (1) Honeybee, (2) Flower with pollen, (3) Honeybee covered with microscopic pollen, (4) Honeybee carrying pollen pellet in her hind legs, (5) Honeybee ready to carry pollen pellet, (6) Hind-legs with pollen pellet, (7) Pollen trap at hive entrance, (8) Trap-tray for bee pollen collection, and (9) Collected bee pollen (courtesy:[6])

## ۲- مواد و روش‌ها

### ۲-۱- مواد اولیه

نشاسته ذرت معمولی (شرکت گلوکوزان قزوین، ایران)، شیرخشک کم چرب (شرکت رزن همدان، ایران)، روغن مایع مخصوص پخت وپز آفتابگردان (شرکت لادن، بهشهر، ایران)،

3. Baking powder  
4. Vanilla powder  
5. Xantan gum  
6. Rhodia food france  
7. Guar gum

**Table 2** Formulation of gluten-free cakes (all values are in grams)

Compositions of treatments	Control	Bee pollen 3%	Bee pollen 6%	Bee pollen 9%	Bee pollen 12%	Bee pollen 15%
Corn starch	100	100	100	100	100	100
Bee pollen	-	3	6	9	12	15
Liquid oil	57	57	57	57	57	57
Sugar powder	85	85	85	85	85	85
vanilla	1	1	1	1	1	1
Baking powder	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35	1.35
milk powder	4	4	4	4	4	4
Water	25	25.75	26.5	27.25	28	28.75
egg	74	74	74	74	74	74
Guar gum	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Xanthan gum	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3

مکعبی با ضخامت ۲۵ میلی‌متر از کیک تهیه و تا ۴۰ درصد (یک سانتی‌متر) ارتفاع اولیه فشرده شد. ارزیابی بافت در طی زمان نگهداری (روزهای ۱، ۷ و ۱۴) پس از پخت انجام گرفت [۱۶]. آزمون در سه تکرار و برای هر دو حالت نگهداری در دمای یخچال و در دمای محیط انجام پذیرفت.

#### ۲-۳-۲- ارزیابی مولفه‌های رنگی

به منظور اندازه‌گیری پارامترهای رنگی بافت نمونه‌های کیک از روش عکس برداری دیجیتال در محفظه شبیه‌ساز هانتربل استفاده شد. نمونه‌های کیک که به صورت عرضی با ضخامت ۳ سانتی‌متر بریده شده و داخل محفظه دستگاه قرار داده و توسط دوربین دیجیتالی Canon IXY930IS با وضوح ۳۰۰ پیکسل تصویر برداری شده و با نرم‌افزار فتوشاپ (Adobe Photoshop CC2018) مولفه‌های رنگی (L, a, b) آن‌ها بدست آمد [۱۷ و ۱۸]. آنالیز مولفه‌های رنگی فقط در کیک‌های روز اول انجام گردید.

#### ۲-۴- آزمون‌های ترکیبات زیست فعال

##### ۲-۴-۱- استخراج عصاره متانولی کیک‌ها

برای استخراج عصاره از کیک‌ها ابتدا قطعات با ضخامت ۱ سانتی‌متر از هر تیمار برش داده شد و در پلیت‌های شماره-گذاری شده چیده شد و به مدت ۲۴ ساعت در آن با دمای ۴۰ درجه سلسیوس خشک شد. سپس کیک‌ها با استفاده از آسیاب آزمایشگاهی آسیاب شده و سپس از الک با اندازه مش ۸۰ عبور داده شده و پودر کیک بدست آمد. استخراج عصاره کیک‌ها با استفاده از محلول متانول ۸۰٪ صورت گرفت. بدین ترتیب که به ازای ۱ گرم نمونه، ۱۰ میلی‌لیتر حلال مورد استفاده قرار گرفت [۱۹]. سپس محلول حاوی نمونه به مدت ۲ ساعت

برای آماده‌سازی گرده زنبورعسل ابتدا آب فرمولاسیون وزن و تمامی گرده مورد نیاز با آب مخلوط شد تا مایعی همگن بدست آید. سپس مایع حاوی گرده زنبورعسل به خمیر حاصل اضافه شد. در تهیه نمونه کنترل، فقط آب بدون گرده استفاده شد. خمیر به میزان ۵۰ گرم در قالب‌های کوچک به ابعاد ۸۰\*۴۰\*۳۵ میلی‌متر که دیواره آن‌ها چرب شده بود و داخل قالب‌ها دارای کپسول کاغذی بود ریخته شد. قالب‌ها در فر صنعتی در دمای ۱۸۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۸ دقیقه قرار داده شدند و عمل پخت انجام گرفت. برای پخت کیک از دستگاه فر پخت کیک کارگاهی (شرکت Voss، آلمان) استفاده شد. پس از سپری شدن مدت فوق، کیک‌ها از قالب خارج و در دمای اتاق به مدت ۲ ساعت خنک شدند [۱۴]. برای فاکتور سفتی بعضی نمونه‌ها در دمای محیط نگهداری شدند. سنجش سفتی در روزهای ۱ و ۷ و ۱۴ انجام شد. برای آزمون کپک‌زدگی نگهداری به مدت ۵۶ روز انجام شد و در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶ تعداد کلونی‌ها شمرده شد. برای بقیه پارامترها، آزمون‌ها فقط در روز اول پس از پخت انجام شد.

#### ۲-۳-۲- آزمون‌های کیفی کیک

##### ۲-۳-۱- بررسی سفتی بافت مغز کیک

بافت مغز کیک توسط ماشین آزمون عمومی (اینسترون مدل ۱۱۴۰، ساخت آمریکا) مجهز به Load cell 5 N با قطر پروب ۳۶ میلی‌متر متصل شده به کراس هد (پیشانی) انجام شد [۱۵]. سرعت پروب (Cross Head) دستگاه ۵۰ میلی‌متر بر دقیقه و سرعت چارت دستگاه ۲۵۰ میلی‌متر بر دقیقه (نسبت چارت به پروب ۵ به ۱) تنظیم شد. برش‌های

تعیین درصد مهار رادیکال‌های آزاد در کیک‌های روز اول انجام گردید. برای اندازه‌گیری مهار رادیکال‌های آزاد DPPH ابتدا ۱۰ میلی‌گرم DPPH در ۲۵ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ حل شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره کیک‌های بدست آمده را برداشته و ۲۵۰ میکرولیتر از محلول DPPH به آن افزوده شد. در نهایت ۲ میلی‌لیتر متانول به محلول اضافه و شدیداً همزده شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در محیط تاریک قرار داده شد و با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico آمریکا) جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. در نهایت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH توسط عصاره از رابطه زیر محاسبه شد [۲۳]:

(رابطه-۲)

= درصد جذب رادیکال‌های آزاد

$100 \times \text{جذب نمونه عصاره} - \text{جذب نمونه کنترل}$

جذب نمونه کنترل

#### ۲-۴-۴-۲- محتوای فلاونوئیدی

اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فلاونوئیدی نمونه‌ها با روش رنگ سنجی آلومنیوم کلراید در روز اول نگهداری کیک انجام شد. بدین ترتیب که ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره بدست آمده با میزان ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ مخلوط و سپس ۰/۱ میلی‌لیتر آلومنیوم کلراید هگزا هیدرات ( $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ ) ۱۰ درصد و ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم ( $CH_3COOK$ ) ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت و در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۱۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Unico آمریکا) خوانده شد و میزان فلاونوئید کل بر اساس میلی‌گرم بر گرم معادل‌ترین گزارش شد [۲۴]. معادله روتین بصورت ذیل به دست آمد:

(رابطه-۳)

$$Y = 0.0091 X + 0.000018 \quad (R^2 = 0.9880)$$

#### ۲-۴-۵-۲- آزمون کنترل کیک‌زدگی در کیک

برای انجام آزمون کیک‌زدگی ابتدا کیک‌ها پس از خنک شدن با چاقوی استریل به قطعات مساوی بریده شد و در کیسه‌های پلاستیکی قرار داده شد. قطعات برش‌یافته در انکوباتور ۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. زمان لازم جهت ظهور کلونی‌های کپک روی کیک به عنوان زمان ماندگاری ثبت شد [۲۵]. نگهداری کیک‌ها به مدت ۵۶ روز انجام شد و در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶ ظهور یا عدم ظهور

با استفاده از شیکر با سرعت ۵۰ rpm هم‌زده شد و در نهایت با استفاده از سانتریفیوژ (دمای ۲۴ و سرعت ۲۶۰۰ g و زمان ۱۵ دقیقه) عصاره نمونه‌ها استخراج شد. نمونه‌ها در ظرفی با رنگ مات قرار گرفتند و سپس با پوشش آلومینیومی پوشانده شدند تا از برخورد نور جلوگیری شود [۲۰].

#### ۲-۴-۲- محتوای فنول کل

اندازه‌گیری محتوای ترکیبات فنولی کل نمونه‌ها طبق روش فولین سیوکالچو انجام شد. بدین صورت که ابتدا ۰/۲۵ میلی‌لیتر از عصاره بدست آمده با میزان ۰/۲۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالچو (رقیق شده با آب به نسبت ۱:۱) مخلوط شده و سپس ۰/۵ میلی‌لیتر سدیم کربنات اشباع ( $Na_2CO_3$ ) به محلول مورد نظر اضافه شد. در نهایت میزان ۴ میلی‌لیتر آب به مخلوط اضافه و به مدت ۲۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. میزان فنول کل براساس میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر و استفاده از منحنی استاندارد معادل اسید گالیک (میلی‌گرم در گرم) با استفاده از اسپکتروفتومتر (Unico آمریکا) بدست آمد [۲۱ و ۲۲]. آنالیز محتوای فنول کل در کیک‌های روز اول انجام گردید. معادله خط رگرسیون که رابطه غلظت محلول اسید گالیک را با میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر نشان می‌دهد، بصورت ذیل به دست آمد:

(رابطه-۱)

$$Y = 0.6953 X + 0.0099 \quad (R^2 = 0.9885)$$

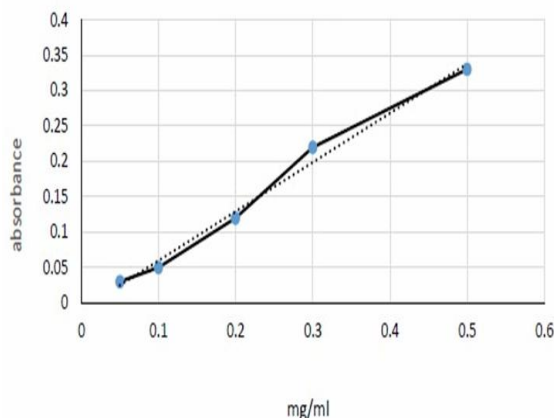
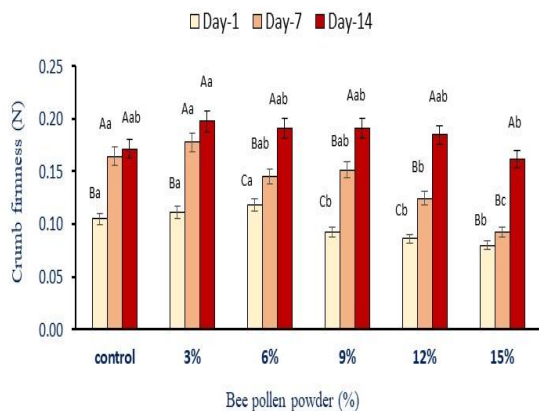


Fig 2 Calibration curve of concentration of polyphenolic compounds versus the absorbance

#### ۲-۴-۳- تعیین درصد مهار رادیکال‌های آزاد (DPPH)

اندازه‌گیری درصد مهار رادیکال‌های آزاد نمونه‌ها با استفاده از DPPH (۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل) انجام شد.

بیشترین مقدار سفتی بود. گرده زنبور عسل به عنوان یک ترکیب طبیعی با خصوصیات امولسیفایری مناسبی بوده و بنابراین افزایش در مقدار گرده می‌تواند به واسطه افزایش در مقدار امولسیفایر، باعث کاهش در مقدار سفتی گردد.



**Fig 3** Effect of incorporating different percentages of bee pollen on cake crumb firmness upon different storage days at ambient temperature. Data are mean of triplicate measurements. Error bars indicate SD values. Upper case and lower case different alphabetical letters show significant ( $p < 0.05$ ) differences between means as function of storage days and pollen level incorporation, respectively

علاوه بر این می‌توان این کاهش احتمالا به خاطر وجود چربی در گرده و خاصیت نرم‌کنندگی آن بوده که با شکل‌گیری کمپلکس لیپید-آمیروز نسبت داد. وجود چربی در فضای بین آمیروزها، توانایی اتصال رشته‌های آمیروز را کم و میزان رتروگرا داسیون را کاهش داده و موجب تأخیر در تشکیل کریستال<sup>۹</sup> نشاسته و بیاتی نان میشود.

اما نگهداری کیک در دمای یخچال نتایج متفاوتی از نظر سفتی بافت مغز کیک های غنی شده با گرده گل نشان داد. بر اساس نتایج شکل ۱ برای نمونه‌های نگهداری شده در دمای یخچال در روز اول پخت بالاترین مقدار در سفتی با میانگین  $0.132N$  مربوط به نمونه حاوی ۱۵ درصد گرده و کمترین مقدار سفتی با میانگین  $0.105N$  مربوط به نمونه کنترل بود. با افزایش در مقادیر افزودن گرده زنبور عسل مقدار سفتی بافت مغز کیک در روز هفتم افزایش پیدا کرد. مقادیر سفتی مغز کیک در روز هفتم بعد از پخت در محدوده  $0.151-0.204N$  قرار داشت که کمترین مقدار با میانگین  $0.151N$  مربوط به تیمار کنترل بود، در حالی که بیشترین مقدار این شاخص

کلونی‌های کیک تعیین شد.

## ۲-۵- طرح آماری و نرم‌افزارهای مورد استفاده

در این تحقیق تاثیر افزودن گرده زنبور عسل به فرمولاسیون کیک بدون گلوتن بر پایه نشاسته ذرت مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. برای آزمون سفتی و کیک زدگی دو فاکتور لحاظ شد. فاکتور اول گرده زنبور عسل در ۶ سطح مختلف (صفر، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۱۵ درصد (w/v)) و فاکتور دوم زمان نگهداری بود که برای سفتی در ۳ سطح (روزهای ۱، ۷ و ۱۴) و برای کیک زدگی در ۹ سطح (روزهای ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲، ۴۹ و ۵۶) بود. آنالیز واریانس و مقایسه میانگین ها به ترتیب به روش ANOVA و آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام گرفت. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excell نسخه ۲۰۱۶ انجام شد.

## ۳- نتایج و بحث

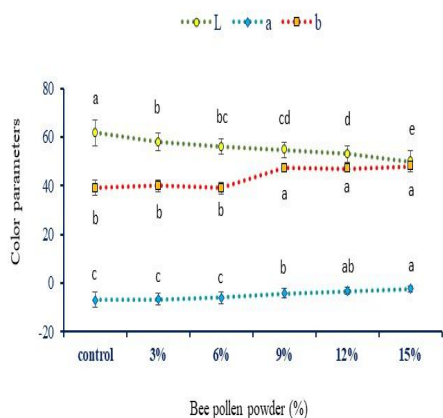
### ۳-۱-۱- نتایج آزمون های کیفی کیک

#### ۳-۱-۱-۱- ارزیابی سفتی مغز کیک

فرایند سفت شدن بافت کیک‌های بدون گلوتن را می‌توان به دو اتفاق نسبت داد که اولین مورد خروج رطوبت از بافت کیک است که منجر به سفت شدن بافت محصول شده و در ادامه، فرایند رتروگرا داسیون<sup>۹</sup> نشاسته و بیاتی درگیر هستند. شکل ۳ نتایج اندازه گیری سفتی بافت مغز کیک بازاء افزودن درصدهای مختلف گرده گل را نشان می دهد.

نتایج شکل ۳ نشان داد که با گذشت زمان سفتی مغز نمونه‌های کیک بیرون یخچال کاهش یافت. مقادیر سفتی در روز هفتم بعد از پخت در محدوده  $0.092-0.177N$  قرار داشت که کمترین مقدار با میانگین  $0.092N$  مربوط به تیمار حاوی ۱۵ درصد گرده گل بود، در حالی که بیشترین مقدار این شاخص مربوط به تیمار ۳ درصد با میانگین  $0.177N$  بود. به طور مشابه، در روز چهاردهم نیز مقادیر سفتی مغز کیک با افزایش در مقدار گرده، کاهش یافته است. به طوریکه در روز چهاردهم نمونه حاوی ۱۵ درصد گرده با میانگین  $0.162N$  دارای کمترین مقدار سفتی و نمونه ۳ درصد گرده با میانگین  $0.198N$  دارای

و رنگ متمایل به زرد گرده زنبور عسل باشد. همچنین با توجه به وجود مقادیر پروتئین بالا در گرده، افزودن آن با تشدید واکنش مایلارد و تشکیل پیگمان‌های ملانویدینی باعث ایجاد تغییرات رنگی محسوس شود [26]. کونته و همکاران [9] نیز علت این تغییرات را انجام واکنش‌های قهوه‌ای شدن غیرآنزیمی نظیر واکنش مایلارد و کاراملیزاسیون قندها عنوان کردند.



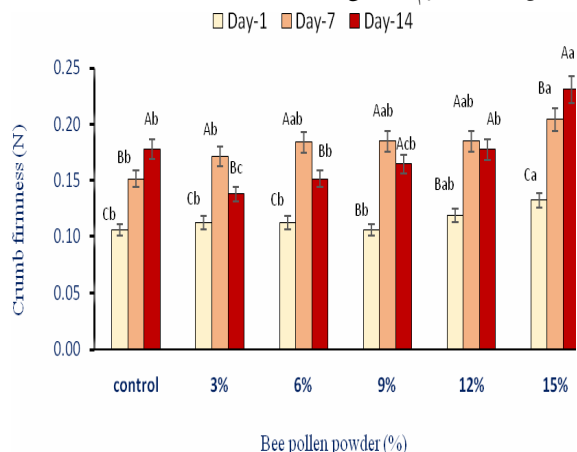
**Fig 5** Effect of incorporating different percentages of bee pollen on LAB color attributes of cakes. Data are mean of triplicate measurements. Error bars indicate SD values. Different alphabetical letters show significant ( $p < 0.05$ ) differences between means

### ۲-۳- ترکیبات زیست فعال

#### ۲-۳-۱- محتوای ترکیبات فنولی

برای آزمون محتوای ترکیبات فنولی، تیمارهای یک‌ها در یک روز پخت شده و سنجش در روز اول پخت انجام شد. ترکیبات فنولی به دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسیل، توانایی خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد را داشته و می‌تواند به عنوان دهنده الکترون یا هیدروژن عمل نمایند [27]. با افزایش ترکیبات فنول کل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر می‌شود. نتایج آنالیز ترکیبات فنولی نمونه‌های یک‌ها بدون گلوتن تیمار شده با درصد‌های مختلف گرده زنبور عسل در شکل ۶ آورده شده است. نتایج بدست آمده نشان داد که افزودن گرده باعث افزایش معنی‌داری ( $p \leq 0.05$ ) در محتوای ترکیبات فنولی شد. تمامی تیمارهای غنی شده با گرده زنبور عسل در مقایسه با نمونه کنترل دارای مقدار ترکیبات فنولی بیشتری بودند.

مربوط به تیمار ۱۵ درصد با میانگین  $0.204N$  بود. به طور مشابه، در روز چهاردهم نمونه حاوی ۱۵ درصد گرده با میانگین  $0.230N$  دارای بیشترین مقدار سفتی و نمونه ۳ درصد گرده با میانگین  $0.137N$  دارای کمترین مقدار سفتی بود. علت افزایش میزان سفتی نمونه‌ها در داخل یخچال نسبت به نمونه شاهد با افزایش زمان احتمالاً حساس بودن چربی‌های گرده زنبور عسل در برابر دماهای پایین و کریستالیزه شدن و کاهش خاصیت نرم‌کنندگی آن‌ها است.

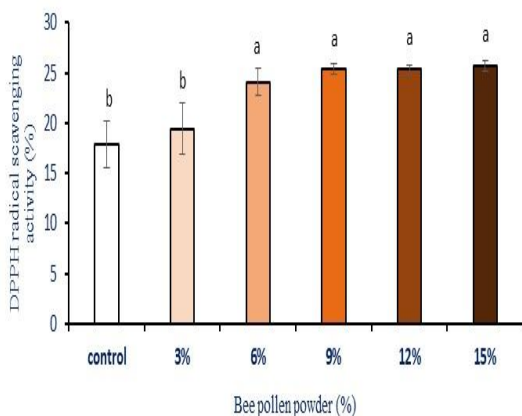


**Fig 4** Effect of incorporating different percentages of bee pollen cake crumb firmness upon storage days at fridge temperature ( $4^{\circ}C$ ). Data are mean of triplicate measurements. Error bars indicate SD values. Upper case and lower case different alphabetical letters show significant ( $p < 0.05$ ) differences between means as function of storage days and pollen level incorporation, respectively

#### ۲-۱-۳- مولفه‌های رنگی

برای آزمون رنگ، یک‌ها در یک روز پخت شده و سنجش در روز اول پخت انجام شد. برای تمام نمونه‌ها فقط از یک نوع گرده استفاده شد. نتایج آزمون ویژگی‌های رنگی نشان داد که افزودن گرده زنبور عسل باعث تاثیر معنی‌داری در رنگ مغز یک‌های بدون گلوتن شد ( $p \leq 0.05$ ) (شکل ۵). افزودن گرده از صفر تا ۱۵ درصد باعث کاهش در اندیس روشنایی (L) از  $61/66$  به  $50$  و افزایش در مقدار اندیس قرمزی (a) از  $7/00$  به  $2/33$  و افزایش در مقادیر اندیس زردی (b) از  $39$  به  $48$  را نشان داد. رنگ نهایی محصولات نانویی مختلف به واکنش‌های پیچیده بین کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها، همچنین رنگ مواد اولیه مورد استفاده در تهیه محصولات نانویی بستگی دارد. علت تغییرات مولفه‌های رنگی نمونه‌ها با افزایش در مقدار گرده می‌تواند تفاوت رنگی بین گرده و نیز نشاسته ذرت

مشاهده شد، بدین معنی که افزایش در مقدار گرده زنبورعسل باعث افزایش در مقدار مهار رادیکال‌های آزاد نمونه‌ها گردید. در پژوهش‌های قبلی گزارش گردیده که گرده گل جمع آوری شده توسط زنبور به دلیل داشتن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی مانند کوئرستین<sup>۱۰</sup> و نارینجین<sup>۱۱</sup> قابلیت موثری در مهار رادیکال‌های آزاد DPPH دارد [۲۹]. همچنین معلوم شده که ارتباط بسیار قوی بین میزان قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد در گرده زنبور عسل با محتوی ترکیبات فنلی آن مانند اسید وانیلیک، اسید فرولیک، روتین و اسید سینامیک وجود دارد که می‌تواند خواص آنتی‌اکسیدانی قوی گرده را بواسطه حضور این ترکیبات توضیح دهد [۳۰]. لذا علت افزایش قابلیت مهار رادیکال‌های آزاد DPPH در کیک‌های غنی شده با گرده گل زنبورعسل ناشی از حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فوق در گرده می‌باشد.

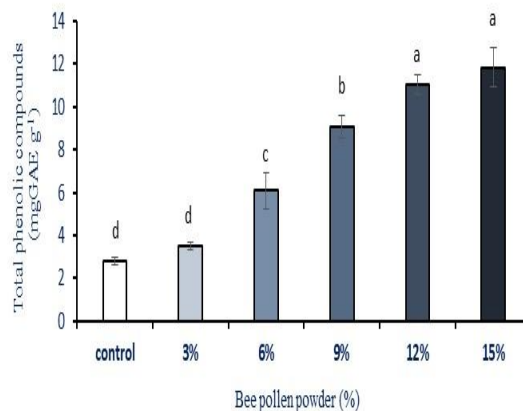


**Fig 7** Effect of incorporating different percentages of bee pollen on DPPH radicals scavenging activity of gluten-free cakes. Data are mean of triplicate measurements. Error bars indicate SD values. Different alphabetical letters show significant ( $p < 0.05$ ) differences between means

### ۳-۲-۳- ترکیبات فلاونوئیدی

برای آزمون ترکیبات فلاونوئیدی، کیک‌ها در یک روز پخت شده و سنجش فقط در روز اول پس از پخت انجام شد. نتایج آنالیز مقدار ترکیبات فلاونوئیدی نمونه‌های کیک بدون گلوتن

بیشترین محتوی ترکیبات فنولی در تیمار ۱۵٪ گرده و کم‌ترین میزان آن در تیمار کنترل مشاهده شد.



**Fig 6** Effect of incorporating different percentages of bee pollen on the amount of phenolic compounds in gluten-free cakes. Data are mean of triplicate measurements. Error bars indicate SD values. Different alphabetical letters show significant ( $p < 0.05$ ) differences between means

گرده جز منابع غنی از ترکیبات فنولی بوده و بنابراین می‌توان علت افزایش در محتوی ترکیبات فنولی نمونه‌های کیک حاوی گرده زنبورعسل را غنی بودن گرده از ترکیبات فنولی در مقایسه با نشاسته ذرت عنوان کرد [۲۸]. براساس نتایج بدست آمده مقدار ترکیبات فنولی کیک‌های بدون گلوتن در محدوده ۲/۷۹-۱۱/۸۳ میلی‌گرم بر گرم معادل اسید گالیک قرار داشت که بیشترین و کم‌ترین مقدار این شاخص برابر با ۱۱/۸۳ و ۲/۷۹ میلی‌گرم بر گرم معادل اسید گالیک به ترتیب مربوط به نمونه حاوی ۱۵٪ گرده و نمونه شاهد بود.

### ۳-۲-۳- درصد مهار رادیکال‌های آزاد

برای آزمون درصد مهار رادیکال‌های آزاد، کیک‌ها در یک روز پخت شده و سنجش در روز اول پخت انجام شد. نتایج نشان داد که افزودن گرده زنبورعسل باعث افزایش معنی‌دار درصد مهار رادیکال‌های آزاد در مقایسه با نمونه کنترل شد ( $p \leq 0/05$ ). بیشترین میزان مهار رادیکال آزاد (۲۵/۷۵ درصد) مربوط به تیمار حاوی ۱۵ درصد گرده زنبورعسل و کم‌ترین میزان آن (۱۷/۸۴ درصد) مربوط به تیمار کنترل بود (شکل ۷). یک رابطه خطی و مستقیم بین محتوی گرده زنبور عسل موجود در فرمولاسیون و مقدار مهار رادیکال‌های آزاد DPPH

10. Quercetin  
11. Naringenin

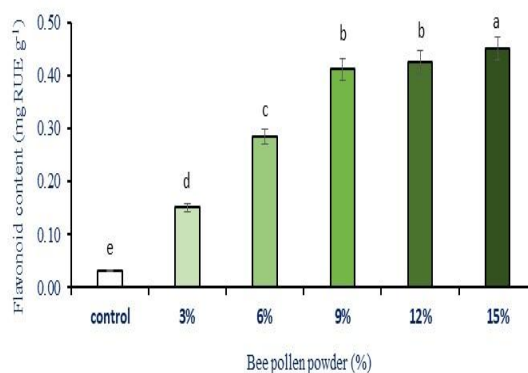


به دلیل اعمال حرارت در جریان پخت محصولات نانوائی ترکیبات زیست فعال مواد غنی کننده نظیر گرده گل می تواند دستخوش تغییرات شود. به طور کلی می توان گفت که فرایندهای حرارتی مختلف می توانند باعث کاهش در مقدار ترکیبات فلاونوئیدی و به تبع آن باعث کاهش در مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی گردند [۳۲]. یکی از راهکارهای محافظت از افت این مواد زیست فعال در گرده درون پوشانی با خشک کردن پاششی می باشد [۳۳]. تغییرات در مقدار ترکیبات فلاونوئیدی در حین فرایند حرارتی احتمالاً ناشی از شکستن ترکیبات فلاونوئیدی و جدا شدن گلیکوزیدها است. بنابراین برای دستیابی به محصولات فراسودمند حاوی گرده زنبور عسل شرایط فرایند باید به گونه ای تنظیم شود که کمترین کاهش در مقدار ترکیبات فلاونوئیدی اتفاق بیفتد.

### ۳-۲-۴- کنترل کپک زدگی در کیک

جدول ۳ مدت زمان لازم برای مشاهده کپک در هر یک از تیمارهای حاوی درصدهای مختلف گرده زنبور عسل را نشان می دهد. بررسی نتایج نشان داد که افزایش مقدار گرده در فرمولاسیون باعث افزایش در مقدار ماندگاری کیک های بدون گلوتن گردید. بالاترین ماندگاریا میزان افزایش گرده دارای رابطه مستقیم بود. مدت ماندگاری رابطه ای عکس با محتوای رطوبت و مقدار آلودگی مواد اولیه و رابطه مستقیمی با مقدار ترکیبات ضد میکروبی و مقدار اسیدهای چرب موجود در تیمارها دارد [۳۴]. بنابراین می توان علت ماندگاری زیاد تیمارهای حاوی گرده را به بیشتر بودن چربی در این نمونه ها ربط داد [۳۵]. نتایج تاثیر گرده بر بازدارندگی کپک در کیک روغنی بدون گلوتن نشان داد تا روز ۲۱ تمامی تیمارهای حاوی گرده و تیمار کنترل فاقد رشد کپک بوده اند و پس از ۲۸ روز نگهداری بسته به درصد افزودن گرده گل ظهور کپک به تاخیر افتاده است. (جدول ۳). در کل می توان نتیجه گرفت گرده قابلیت نگهداری کیک را به دلیل خواص ضد کپکی آنها افزایش می دهد [۲۳].

در شکل ۸ آورده شده است. همان طور که مشاهده می شود افزایش مقدار گرده زنبور عسل باعث افزایش معنی دار در محتوای ترکیبات فلاونوئیدی نمونه ها در مقایسه با نمونه کنترل شد ( $P < 0.05$ ). کمترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با میانگین  $0.316$  میلی گرم بر گرم معادل روتین مربوط به نمونه کنترل و بیشترین مقدار ترکیبات فلاونوئیدی با میانگین  $0.450$  میلی گرم بر گرم معادل روتین مربوط به نمونه حاوی ۱۵ درصد گرده زنبور عسل بود. افزایش مقدار گرده زنبور عسل باعث افزایش ترکیبات فلاونوئیدی گردید. گزارش شده است که گرده گل جمع آوری شده توسط زنبور عسل غنی از ترکیبات فلاونوئیدی نظیر کمپفرول<sup>۱۲</sup>، میریستین<sup>۱۳</sup>، ایزورامتین<sup>۱۴</sup>، لوتئولین<sup>۱۵</sup> و کاتچین می باشد که مسول رنگ خاص گرده و طعم تلخ آن می باشند. ترکیبات فلاونوئیدی فوق بخاطر داشتن ماهیت آنتی اکسیدانی قوی اثرات سلامتی بخش مهمی در بدن ایفا می توانند ایفا کنند [۳۱].



**Fig 8** Effect of incorporating different percentages of bee pollen on flavonoids content of gluten-free cakes. Data are mean of triplicate measurements. Error bars indicate SD values. Different alphabetical letters show significant ( $p < 0.05$ ) differences between means

علت افزایش قابل توجه در محتوای ترکیبات فلاونوئیدی در کیک های غنی شده با گرده ناشی از وجود این ترکیبات در گرده می باشد.

12. Kaempferol  
13. Myricetin  
14. Isorhamnetin,  
15. Luteolin

**Table 3** Effect of different percentages of bee pollen on mold appearance during storage days at fridge temperature (4°C)

Treatments	Day7	Day14	Day21	Day28	Day35	Day42	Day49	Day56
Control	-*	-	+	+	+	+	+	+
3%	-	-	-	-	-	+	+	+
6%	-	-	-	-	-	-	+	+
9%	-	-	-	-	-	-	+	+
12%	-	-	-	-	-	-	-	+
15%	-	-	-	-	-	-	-	+

\* - : no mold; +: mold appeared

فیزیکی این دو سطح در کیک می توان نتیجه گرفت که نمونه حاوی ۶ درصد گرده زنبورعسل به عنوان بهترین مقدار جهت افزودن به کیک می باشد که باعث افزایش اعتماد به خواص سلامت بخشی و بازار پسندی محصول نیز می شود.

### ۵- منابع

- [1] Sharma, R.; Rashidinejad, A.; Jafari, S.M. Application of Spray Dried Encapsulated Probiotics in Functional Food Formulations. *Food Bioprocess Technol.*2022, 1–20.
- [2] Peighambardoust, S.H.; Karami, Z.; Pateiro, M.; Lorenzo, J.M. A Review on Health-Promoting, Biological, and Functional Aspects of Bioactive Peptides in Food Applications. *Biomolecules*2021, 11, 631, doi:10.3390/biom11050631.
- [3] Karami, Z.; Peighambardoust, S.H.; Hesari, J.; Akbari-Adergani, B.; Andreu, D. Antioxidant, Anticancer and ACE-Inhibitory Activities of Bioactive Peptides from Wheat Germ Protein Hydrolysates. *Food Biosci.*2019, 32, 100450, doi:10.1016/j.fbio.2019.100450.
- [4] Difonzo, G.; de Gennaro, G.; Pasqualone, A.; Caponio, F. Potential Use of Plant - based By-products and Waste to Improve the Quality of Gluten - free Foods. *J. Sci. Food Agric.*2022, 102, 2199–2211.
- [5] Peighambardoust, S.H.; Homayouni Rad, A.; Beikzadeh, S.; Asghari Jafar-abadi, M. Effect of Basil Seed Mucilage on Physical, Sensory and Staling Properties of Sponge Cake. *Iran. J. Biosyst. Eng.*2016, 47, 1–9.
- [6] Thakur, M.; Nanda, V. Composition and Functionality of Bee Pollen: A Review. *Trends Food Sci. Technol.*2020, 98, 82–106.
- [7] Morais, M.; Moreira, L.; Feás, X.; Estevinho, L.M. Honeybee-Collected Pollen from Five Portuguese Natural Parks: Palynological Origin, Phenolic Content,

### ۴- نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد با بکار بردن گرده گل زنبورعسل در ترکیب کیک بدون گلوتن، محتوای ترکیبات فنولی، قدرت مهار رادیکال های آزاد و مقدار ترکیبات فلاونوئیدمحصول افزایش یافت که به نوبه خود با بهبود خواص کاری و شیمیایی و فراسودمندی محصول نهایی سبب حفظ حالت تازگی محصول گردید. از طرفی ماندگاری کیک های حاوی گرده زنبورعسل بسیار قابل توجه بود و اثرات کپک زدگی در کیک ها بسیار دیر و در روز ۲۱ نگهداری نمایان شد که یک امتیاز خوب برای این نوع کیک ها می باشد. سفتی محصول بعد از اندازه گیری در روزهای (۱، ۷، ۱۴) نگهداری در یخچال افزایش یافت در حالی که این امر در دمای محیط با کاهش میزان سفتی همراه بود. افزایش گرده زنبورعسل در محصول نهایی به مقدار کمی منجر به کاهش روشنی ظاهر محصول و افزایش تیرگی آن شد به گونه ای که افزودن گرده باعث کاهش در اندیس روشنی (L) و افزایش در اندیس های قرمزی (a) و زردی (b) گردید. حضور گرده زنبورعسل سبب تغییرات معنی داریدر ویژگی های فراسودمندی محصول در سطوح مختلف گرده نیز گردید. غلظت ۱۵٪ گرده گل با وجود اینکه در تمامی آزمایشات نتایج مطلوبی به همراه داشت اما، در دو مورد دچار نقص بود. اول اینکه میزان افزودن ۱۵ درصد گرده گل به کیک، برای تولید محصول در صنعت، صرفه اقتصادی ندارد. مورد دوم اینکه نمونه ۱۵ درصد گرده گل در ارزیابی حسی توسط متخصصان تغذیه مورد پذیرش واقع نشد، زیرا طعم خاص تندی در کیک ها ایجاد کرد که احساس دهانی مطلوبی نداشت. بهترین سطوحی از گرده که از نظر افراد متخصص پذیرش بالایی داشت غلظت های ۶ و ۹ درصد گرده بود، زیرا در این سطوح بیشترین تاثیر مثبت را بر خصوصیات حسی کیک گذاشته است. با توجه به ویژگی های حسی و

- D. Properties of Dried Apricots Pretreated by Ultrasound-Assisted Osmotic Dehydration and Application of Active Coatings. *Food Technol. Biotechnol.* 2020, 58, doi:10.17113/ftb.58.03.20.6471.
- [18] Ravash, N.; Peighambardoust, S.H.; Soltanzadeh, M.; Pateiro, M.; Lorenzo, J.M. Impact of High-Pressure Treatment on Casein Micelles, Whey Proteins, Fat Globules and Enzymes Activity in Dairy Products: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 2022, 62, 2888–2908.
- [19] Wronkowska, M.; Zielińska, D.; Szawara-Nowak, D.; Troszyńska, A.; Soral - Śmietana, M. Antioxidative and Reducing Capacity, Macroelements Content and Sensorial Properties of Buckwheat-enhanced Gluten - free Bread. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2010, 45, 1993–2000.
- [20] Foroutan, R.; Peighambardoust, S.J.; Peighambardoust, S.H.; Pateiro, M.; Lorenzo, J.M. Adsorption of Crystal Violet Dye Using Activated Carbon of Lemon Wood and Activated Carbon/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> Magnetic Nanocomposite from Aqueous Solutions: A Kinetic, Equilibrium and Thermodynamic Study. *Mol.* 2021, 26.
- [21] Soltanzadeh, M.; Peighambardoust, S.H.; Ghanbarzadeh, B.; Amjadi, S.; Mohammadi, M.; Lorenzo, J.M.; Hamishehkar, H. Active Gelatin/Cress Seed Gum-Based Films Reinforced with Chitosan Nanoparticles Encapsulating Pomegranate Peel Extract: Preparation and Characterization. *Food Hydrocoll.* 2022, 129, 107620, doi:10.1016/j.foodhyd.2022.107620.
- [22] Soltanzadeh, M.; Peighambardoust, S.H.; Gullon, P.; Hesari, J.; Gullón, B.; Alirezalu, K.; Lorenzo, J. Quality Aspects and Safety of Pulsed Electric Field (PEF) Processing on Dairy Products: A Comprehensive Review. *Food Rev. Int.* 2020, 1–22, doi:10.1080/87559129.2020.1849273.
- [23] Soltanzadeh, M.; Peighambardoust, S.H.; Ghanbarzadeh, B.; Mohammadi, M.; Lorenzo, J.M. Chitosan Nanoparticles Encapsulating Lemongrass (*Cymbopogon Commutatus*) Essential Oil: Physicochemical, Structural, Antimicrobial and in-Vitro Release Properties. *Int. J. Biol. Macromol.* 2021, 192, 1084–1097, doi:10.1016/J.IJBIOMAC.2021.10.070.
- [24] Beikzadeh, M.; Peighambardoust, S.H.; Beikzadeh, S.; Homayouni-Rad, A. Effect of Antioxidant Properties and Antimicrobial Activity. *Food Chem. Toxicol.* 2011, 49, 1096–1101.
- [8] Kroyer, G.; Hegedus, N. Evaluation of Bioactive Properties of Pollen Extracts as Functional Dietary Food Supplement. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 2001, 2, 171–174.
- [9] Conte, P.; Del Caro, A.; Balestra, F.; Piga, A.; Fadda, C. Bee Pollen as a Functional Ingredient in Gluten-Free Bread: A Physical-Chemical, Technological and Sensory Approach. *LWT* 2018, 90, 1–7.
- [10] Krystyjan, M.; Gumul, D.; Ziobro, R.; Korus, A. The Fortification of Biscuits with Bee Pollen and Its Effect on Physicochemical and Antioxidant Properties in Biscuits. *LWT-Food Sci. Technol.* 2015, 63, 640–646.
- [11] Almeida-Muradian, L.B.; Pamplona, L.C.; Coimbra, S.; Barth, O.M. Chemical Composition and Botanical Evaluation of Dried Bee Pollen Pellets. *J. food Compos. Anal.* 2005, 18, 105–111.
- [12] Nourmohammadi, E.; Peighambardoust, S.H. A Comprehensive Study on the Effect of Maltitol and Oligofructose as Alternative Sweeteners in Sponge Cakes. *Int. J. Food Eng.* 2015, 11, doi:10.1515/ijfe-2014-0289.
- [13] Peighambardoust, S.H.; van Brenk, S.; van der Goot, A.J.; Hamer, R.J.; Boom, R.M. Dough Processing in a Couette-Type Device with Varying Eccentricity: Effect on Glutenin Macro-Polymer Properties and Dough Micro-Structure. *J. Cereal Sci.* 2007, 45, 34–48, doi:10.1016/j.jcs.2006.05.009.
- [14] Peighambardoust, S.H.; van der Goot, A.J.; Boom, R.M.; Hamer, R.J. Mixing Behaviour of a Zero-Developed Dough Compared to a Flour-Water Mixture. *J. Cereal Sci.* 2006, 44, doi:10.1016/j.jcs.2005.12.011.
- [15] van der Goot, A.J.J.; Peighambardoust, S.H.H.; Akkermans, C.; Van Oosten-Manski, J.M.M. Creating Novel Structures in Food Materials: The Role of Well-Defined Shear Flow. *Food Biophys.* 2008, 3, 120–125, doi:10.1007/s11483-008-9081-8.
- [16] Peighambardoust, S.H.; Hamer, R.J.; Boom, R.M.; van der Goot, A.J. Migration of Gluten under Shear Flow as a Novel Mechanism for Separating Wheat Flour into Gluten and Starch. *J. Cereal Sci.* 2008, 48, 327–338, doi:10.1016/j.jcs.2007.10.005.
- [17] Sakooei-Vayghan, R.; Peighambardoust, S.H.; Hesari, J.; Soltanzadeh, M.; Peressini,

- 01.055.
- [30] Ulusoy, E.; Kolayli, S. Phenolic Composition and Antioxidant Properties of Anzer Bee Pollen. *J. Food Biochem.* 2014, 38, 73–82, doi:<https://doi.org/10.1111/jfbc.12027>.
- [31] Jannesar, M.; Shoushtari, M.S.; Majd, A.; Pourpak, Z. Bee Pollen Flavonoids as a Therapeutic Agent in Allergic and Immunological Disorders. *Iran. J. Allergy, Asthma Immunol.* 2017, 171–182.
- [32] Beikzadeh, S.; Peighambaroust, S.H.; Beikzadeh, M.; Javar-Abadi, M.A.; Homayouni-Rad, A. Effect of Psyllium Husk on Physical, Nutritional, Sensory, and Staling Properties of Dietary Prebiotic Sponge Cake. *Czech J. Food Sci.* 2016, doi:10.17221/551/2015-CJFS.
- [33] Peighambaroust, S.H.; Beigmohammadi, F.; Peighambaroust, S.J. Application of Organoclay Nanoparticle in Low-Density Polyethylene Films for Packaging of UF Cheese. *Packag. Technol. Sci.* 2016, 29, 355–363, doi:10.1002/pts.2212.
- [34] Golshan Tafti, A.; Peighambaroust, S.H.; Behnam, F.; Bahrami, A.; Aghagholizadeh, R.; Ghamari, M.; Rafat, S.A. Effects of Spray-Dried Sourdough on Flour Characteristics and Rheological Properties of Dough. *Czech J. Food Sci.* 2013, 31, 361–367.
- [35] Aghamirzaei, M.; Peighambaroust, S.H.; Azadmard-Damirchi, S.; Majzoobi, M. Effects of Grape Seed Powder as a Functional Ingredient on Flour Physicochemical Characteristics and Dough Rheological Properties. *J. Agric. Sci. Technol.* 2015, 17, 365–373.
- Inulin, Oligofructose and Oligofructose-Enriched Inulin on Physicochemical, Staling, and Sensory Properties of Prebiotic Cake. *J. Agric. Sci. Technol.* 2017, 19.
- [25] Nourmohammadi, E.; Peighambaroust, S.H. New Concept in Reduced-Calorie Sponge Cake Production by Xylitol and Oligofructose. *J. Food Qual.* 2016, 39, 627–633, doi:10.1111/jfq.12233.
- [26] Panahirad, S.; Dadpour, M.; Peighambaroust, S.H.; Soltanzadeh, M.; Gullón, B.; Alirezalu, K.; Lorenzo, J.M. Applications of Carboxymethyl Cellulose and Pectin-Based Active Edible Coatings in Preservation of Fruits and Vegetables: A Review. *Trends Food Sci. Technol.* 2021, 110, 663–673, doi:<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.025>.
- [27] Golshan Tafti, A.; Peighambaroust, S.H.; Hesari, J.; Bahrami, A.; Shakuoie Bonab, E. Physico-Chemical and Functional Properties of Spray-Dried Sourdough in Breadmaking. *Food Sci. Technol. Int.* 2013, 19, 271–278, doi:10.1177%2F1082013212452415.
- [28] Sarabandi, K.; Peighambaroust, S.H.; Mahoonak, A.S.; Samaei, S.P. Effect of Carrier Types and Compositions on the Production Yield, Microstructure and Physical Characteristics of Spray Dried Sour Cherry Juice Concentrate. *J. Food Meas. Charact.* 2017, 11, 1602–1612, doi:10.1007/s11694-017-9540-3.
- [29] LeBlanc, B.W.; Davis, O.K.; Boue, S.; DeLucca, A.; Deeby, T. Antioxidant Activity of Sonoran Desert Bee Pollen. *Food Chem.* 2009, 115, 1299–1305, doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009>.



## Evaluating the effect of honey bee pollen incorporation on bioactive compounds, antioxidant properties and shelf life of gluten-free cake

Jalili, F. <sup>1</sup>, Peighambaroust, S. H. <sup>1\*</sup>, Bodbodak, S. <sup>2</sup>, Olad Ghaffari, A. <sup>3</sup>

1. Department of Food Science, College of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

2. Department of Food Science and Technology, Ahar Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Ahar, Iran.

3. Food and Agriculture Research Institute, Standard Research Institute, Tabriz, Iran.

### ARTICLE INFO

### ABSTRACT

#### Article History:

Received 2022/ 07/ 18

Accepted 2022/ 10/ 16

#### Keywords:

Firmness,  
Phenolic compounds,  
Flavonoids,  
Inhibition of free radicals,  
Flower pollen.

DOI: 10.22034/FSCT.19.130.371

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.130.28.7

\*Corresponding Author E-Mail:  
peighambaroust@tabrizu.ac.ir

Today, bee pollen has been generally considered as a health-promoting ingredient, which is rich in nutrients with desirable antioxidant properties. Gluten-free (GF) cake is consumed by patients with gluten intolerance symptoms. In this study, the effect of adding different amounts of pollen (0, 3, 6, 9, 12 and 15% w/v) to the formulation of gluten-free cake on the qualitative characteristics, bioactive compounds, and shelf-life of the GF cake was studied. The experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design with three replications. Analysis of variance and comparison of means were performed by ANOVA and Duncan's test, respectively at the probability level of 5%. The results showed that by increasing the percentage of bee pollen, the amount of phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity of the samples increased significantly ( $P < 0.05$ ) in the day after cooking compared to the control sample. The phenolic compounds increased from 2.79 to 11.83 mg GAE/g, the free radical inhibition power increased from 17.8 to 25.8%, and the flavonoid compounds increased from 0.316 to 0.450 mg RUE/g. Increasing pollen incorporation decreased crumb firmness of the GF cakes stored at ambient temperature. Cake firmness was evaluated at both ambient and fridge temperatures. The lowest and highest amount of firmness corresponding to 0.16 and 0.20 N was obtained in day 14th at ambient temperature related to the sample with 15 and 3% pollen. However, storage in fridge increased cake firmness by increasing bee pollen percentage over storage period, and the highest value of 0.23 N on the day 14th was obtained for the 15% sample. Increasing the amount of pollen to 15% decreased the lightness (L) from 61.7 to 50, increased the redness (a) from -7.00 to -2.33 and the yellowness (b) from 39 to 48. Increasing pollen percent significantly increased the shelf-life of enriched cakes stored in the fridge. The control and 15% samples presented the least and the most resistant samples against mold growth. The longest shelf-life of the cake was obtained in day 42nd for the cake containing 15% pollen. Cakes incorporating 6% bee pollen exhibited the desired physical and sensorial properties, and thus, introduced as the optimum formulation.