Sudan University of Science and Technology

PHENOLIC CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF SUDANESE HONEY

SUMAYA IBRAHIM MOHAMMED HAMAD B.Sc. Agric. (1987) Food Science and Technology University of Alexandria

Supervised by

Dr. YOUSIF MOHAMMED AHMED

A

Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements of the Degree of Master of Science in Food Science and Technology

May 2007

Department of Food Science and Technology College of Agricultural Studies

جامعة السودان للعلوم والتكنولوجيا المحتوي الفينولي و نشاط مضادات الأكسدة في عسل النحل السوداني

> سمية إبراهيم محمد حمد (1987) (بكالوريوس الزارعة (1987) علوم وتكنولوجيا الأغذية جامعة الإسكندرية

للثر_ف

د. يوسف محمد أحمد

الأطروحة م قدمة كجزء يفي بمتطلبات نيل درجة الماجستير في علوم وتكنولوجيا الأغذية

ما يو 2007م

قسم علوم وتكنولوجيا الأغذية كلية الدراسات الزراعية

بسمالله المرحمن المرحيم :قال تعالى في محكم تنزيله

وأوحي ربك إلى النحلِ أن اتخِذي من الجبالِ بيوتاً ومن" الشجرِ ومما يعرشُون* ثم كلي من كلِ الثمراتِ فاسلكي سبلَ ربكِ ذللاً يخرج من بطونها شرابُ مختلفٌ ألوانه "فيه شفاءٌ للناسِ إن في ذلك لآية لقومِ يتفكرون

صدق الله العظيم

(النحل-الآية (68-67)

DEDICATION

With my love,
I dedicate this thesis to
The Soul of my Father,
My Mothers,
My Dear Husband
and to My Family

Sumaya

ACKNOWLDEGMENTS

Foremost, I am grateful to Allah, for providing me the health till I completed this work.

To my supervisor Dr. Yousif Mohamed Ahmed, Dean College of Agricultural Studies of the Sudan University of Science and Technology, I would like to express my deep gratitude and my appreciations. I am indebted to him for his supervision, guidance, valuable discussions, encouragement, assistance and support throughout the course of the study.

My thanks are extended to the members of Department of Food Science and Technology, College of Agricultural Studies, Sudan University of Science and Technology.

Deep gratitude and special thanks to Dr. Saif Eldeen Basheer and Ustaz Yousif Ahmed Ibrahim for their valuable helps.

I would like to extend my thanks to my colleagues and friends and every body who helped me.

Special thanks and gratitude to my family for their continuous encouragement during the study.

To my dear husband, I am deeply grateful and more indebted for his forbearance, encouragement and support throughout the period of the study.

CONTENTS

	Page No.	
Dedication	iii	
Acknowledgements		
List of Tables	ix	
List of Figures	X	
List of Abbreviations	xi	
Abstract	xii	
Abstract in Arabic	xiv	
Aboutact in Attable	AIV	
CHAPTER ONE		
1. Introduction	1	
CHAPTER TWO		
2. Literature Review	4	
2.1 Honey	4	
2.1.1 Definition of honey2.1.2 History of honey2.1.3 Types of honey2.1.4 Description of honey2.1.5 Nectar sources2.1.6 Identification of honey types2.1.7 Chemical properties	4 5 5 6 6 7 7	
2.1.7.1 Moisture 2.1.7.2 Acids 2.1.7.3 Carbohydrates 2.1.7.4 Proteins and amino acids 2.1.7.5 Vitamins and minerals 2.7.1.6 Enzymes 2.1.7.7 Hydroxy methyl furfuraldehyde	7 8 8 10 10 11	

2.1.8 Physical properties	13
2.1.8.1 Viscosity	13
2.1.8.2 Hygroscopicity	15
2.1.8.3 Specific gravity (density)	15
2.1.8.4 Refractive index	16
	Page No.
2.1.8.5 Optical rotation	16
2.1.8.6 Surface tension	17
2.1.8.7 Crystallization (granulation)	17
2.1.8.8 Colour	18
2.1.8.9 Acidity and pH	20
2.1.9 Antimicrobial properties of honey	20
2.1.10 Honey and enzymic browning	20
2.1.11 Honey and lipid oxidation	21
2.1.12 Sensory properties of honey	22
2.1.13 Rheological behavior of honey	22
2.1.14 Quality of honey	23
2.1.15 Nutritional benefits of honey	23
2.1.16 Uses of honey	23
2.1.16.1 Food system and applications	23
2.1.16.2 Medicinal uses	24
2.1.16.3 Honey and wound healing	25
2.1.17 Hydrogen peroxide	26
2.1.18 Honey adulteration	26
2.1.19 Honey and allergens	27
2.2 Antioxidants	27
2.2.1 Definition	27
2.2.2 Importance of antioxidants	28
2.2.3 Determination of antioxidant activity	29
2.2.4 Antioxidants capacity in honey	30
2.2.5 Antioxidants components of honey	30
2.2.6 Synthetic antioxidants	31
2.2.6.1 Determination of synthetic phenolic	
antioxidants	33

2.2.7 Dietary significance of antioxidants in honey2.2.8 Flavonoids	33 34
2.2.8.1 Flavonoids as natural antioxidants 2.2.8.2 Flavonoid toxicity	34 34
Page No.	
2.2.9 Reactive oxygen species (ROS) and antioxidant enzymes	36
2.2.10 The evolution of antioxidants and antioxidant enzymes	36
2.3 Phenols	37
2.3.1 Definition2.3.2 Oxidation of phenols2.3.3 Physical properties of phenols2.3.4 Phenols as scavenger2.3.5 Honey phenolics2.3.6 Phenolic acids in honey	37 37 38 38 38 39
2.4 Free radicals	40
2.4.1 Definition2.4.2 Oxygen-derived free radicals and oxidants2.4.3 The role of free radicals2.4.4 Scavenging of free radical	40 40 41 41
CHAPTER THREE	
3. Materials and Methods	43
3.1 Materials	43
3.1.1 Honey3.1.2 Chemicals and reagents3.1.3 Preparation of samples	43 43 45

45
45
45
45
46
46
46
Page No.
47
47
47
47
49
49
51
52
52
53
54
54
56
57
57
59

4.3 Estimation of total phenolic content
62
4.4 Determination of antioxidant activities
63

CHAPTER FIVE

5. Conclusions and Recommendations685.1 Conclusions685.2 Recommendations

69

References 70

LIST OF TABLES

\mathbf{T}	able
Page	No.

	1. Rella	ctive index and water content of noneys	9
	2: Mine	rals content of light and dark honey	10
	3: Typic	al composition of honey	13
	4: Colou	ar and viscosity of some honeys	14
	5: Visco	sity of sweet clover honey according to temperature	14
		tion of viscosity of clover honey according to its content	14
		oximate equilibrium between relative humidity (RH) bient air and water content of clover honey	15
	8: True	specific gravity of honeys with different water contents	16
	9: Colou	ır designation	18
hoi	10: ney 55	Moisture, ash, nitrogen and protein contents of Sudanese	
	11: 58	Physical properties of Sudanese honey	
	12: 61	Colour of Sudanese honey	
	13: differ	Total phenolic contents and antioxidant activities of ent types of Sudanese honey	68
		THE OF FLOUDES AND DIAFFS	

LIST OF FIGURES AND PLATES

Figure /Plate Page No.

Fig.1: Molecular structures of PG, TBHQ, BHA and BHT

32

Fig.2: Some honey flavonoids and simple phenolic compounds 35

Plate.1: Honey samples of different floral sources

44

Plate.2: Minolta chromameter

48

Plate.3: Spectrophotometer

50

LIST OF ABBREVIATIONS

a*, b* : Chromatic components (red, yellow)

L*: Lightness component

P: Probability level

r : Correlation coefficient

IW₅₀ : Dry weight (μ g)causing 50% of inhibition

TSS : Total soluble solids

ROS : Reactive oxygen species

RNS : Relative nitrogen species

PG : Propyl gallate

TBHQ: Tert-butyl hydroquinone

BHA : Butylated hydroxyanisole

BHT : Butylated hydroxytoluene

TBA: Thiobarbituric acid

TBARS: Thiobarbituric acid reactive substances

HPLC: High performance Liquid Chromatography

ABSTRACT

This investigation was carried out to determine the phenolic contents and antioxidant activity of Sudanese honey. Seven samples of Sudanese honey were tested for phenolic content, antioxidant activity and other parameters such as moisture, pH, refractive index, ash, total soluble solids, protein, electrical conductivity and colour intensity.

Results of analysis demonstrated that there is a good amount of phenolic content and antioxidant activity in Sudanese honey. It ranged from 4.4 to 201.1 mg/TAE/100 g honey for phenolic content. The highest amount of total phenolic content was found in the *Acacia nilotica* honey (Sunut) 201.1 mg/TAE/100 g honey followed by the *Balanites aegyptiaca* honey (Heglig) 146.38 mg/TAE/100 g honey and then came *Acacia seyal* honey (Talih) 67.11 mg/TAE/100 g honey. Honey from Two types of *Ziziphus spina-christi* (Sidir of mountain and Sidir) showed similar values 21.98 and 20.15 mg/TAE/100 g honey respectively, while honey of *Azadirachta indica* (Neem) was found to contain 17.15 mg/TAE/100 g honey and honey from *Cucurbita maxima* Duch. (Pumpkin) was found to contain 4.44 mg/TAE/100 g honey.

For antioxidant activity, it ranged from 3177 to 6247µg for dry weight sample cause 50% inhibition, which indicates antioxidant activity. The maximum antioxidant effect was found in *Azadirachta indica* honey (Neem) 3177 µg followed by *Balanites aegyptiaca* honey (Heglig) 4045 µg, then *Ziziphus spina-christi* honey (Sidir) 4068 µg, and *Acacia seyal* honey (Talih) 4679 µg, while *Ziziphus spina-christi* honey (Sidir of mountain) was 5125 µg. The minimum antioxidant effect was observed in

Acacia nilotica honey (Sunut) 6247 μg, followed by *Cucuribia maxima* Duch. honey (Pumpkin) 5323 μg.

Results of this study showed highly significant differences (P<0.01) in phenolic contents of different honey samples. There was no correlation (r=0.441) between antioxidant activity and total phenolic content .

Percent of inhibition increased with increasing the concentration. There was highly positive Correlation between concentrations (5, 25 and 50µl) of diluted honey samples and the percent of inhibition, which indicates the antioxidant activity.

Results of parameters such as protein, "Brix and electrical conductivity are within the standard levels and they ranged from 0.200-0.286, 75.2-79.0 and 0.20-0.80 for protein, "Brix and electrical conductivity, respectively. Highly significant differences (P<0.01) were observed for other parameters such as moisture, pH, refractive index and ash, with Values ranging from 16.20-21.27%, 3.70-4.80%, 1.4833-1.4960% and 0.1207-1.205%, respectively. The Brix in honey showed significantly high negative correlation (P<0.05) (r=-0.869) with moisture content.

Colour of honey samples was measured by using Aminolta chromameter and the values of L^* , a^* and b^* were obtained and the values of chroma, hue angle, and browning index were calculated . The ranges of 24.47-59.44, -1.26-8.41 and 2.40-22.02 for L^* , a^* and b^* , respectively, while the calculated ranges of 2.70-22.30, 62.68-89.51 and 11.76-82.35 were obtained for chroma, hue angle and browning index, respectively.

أجرى هذا البحث لتحديد محتوى المواد الفينولية ومضادات الأكسدة في العسل السوداني. تم إختبار سبع عينات من العسل السوداني لتحديد محتواها من المواد الفينولية ونشاط مضادات الأكسدة؛ وأيضاً تم تحديد محتواها الرطوبي والأس الهيدروجيني ومعامل الإنكسار والرماد والمواد الصلبة . الذائبة والبروتين، كما تم قياس التوصيل الكهربي و قياس اللون أثبتت نتائج التجارب وجود نسبة م قدرة من المواد الفينولية

أثبتت نتائج التجارب وجود نسبة مقدرة من المواد الفينولية ومضادات الأكسدة في العسل السوداني تراوحت مابين 1.4.4 مابين 1.4.4 المواد الفينولية وجدت مابين 1.4.4 المواد الفينولية وجدت 1.4.4 المواد الفينولية وجدت 1.4.4 المواد الفينولية وجدت 1.4.4 mg/TAE/100 g honey 1.46.38 مسل السنط 1.4.4 mg/TAE/100 g honey 1.46.38 أما عينتي عسل السدر الجبلي والسدر فأظهرت نتائج مت قاربة 1.46 على التوالي. عسل النيم 1.46 mg/TAE/100 g honey 1.46 والسدر فأظهرت نتائج مت قاربة 1.46 mg/TAE/100 g honey 1.46 القرع أقل نسبة تراوحت مابين 1.46 وأظهر عسل القرع أقل نسبة تراوحت مابين 1.46 وأعلى تأثير لنشاط 1.46 المناط المحدة بنسبة 1.46 تأثير لنشاط 1.46 المحادات 1.46 المحادات 1.46 النيم 1.46 النيم 1.46 المحادات 1.46 المحادات 1.46 المحادات 1.46 المدر 1.46 المحادات 1.46 المحدد 1.46 ال

فى المواد الفينولية (P<0.01) أظهرت النتائج لِختلاف عالى المعنوية للعينات المختلفة؛ كما أثبتت نتائج التحليل التى أجريت لمعرفة العلاقة بين العينات المختلفة؛ كما أثبتت نتائج القينولية ومضادات الأكسدة أنها ليست معنوية (P>0.05).

أخذت تراكيز مختلفة (5، 25 و 50 ميكرولتر) من كل عينة وحسبت النسبة المئوية تزداد بزيادة النسبة المئوية تزداد بزيادة التركيز. أيضاً أجرى تحليل للنتائج لمعرفة إن كان هناك علا قة بين النسبة التركيز. أيضاً أجرى المئوية والتركيز حيث أكدت النتائج وجود علا قة موجبة

نتائج البروتين والمواد الصلبة الذائبة والتوصيل الكهربي كانت ضمن المواصفات القياسية لعسل النحل حيث تراوحت مابين 0.286-0.200، المواصفات القياسية لعسل النحل حيث تراوحت مابين 0.80-0.20، الرقم التوالي. نتائج نسبة الرطوبة، الرقم الهيدروجيني، معامل الإنكسار ونسبة الرماد تراوحت بين 16.20، 21.27-16.20، التوالي، وهذه 4.80-3.70 على التوالي، وهذه بين العينات المختلفة (P<0.01) النتائج أظهرت إختلاف عالى المعنوية

ولمعرفة العلاقة بين نسبة الرطوبة ونسبة المواد الصلبة الذائبة أظهرت (r=-0.869) ذات تأثير معنوى (r=-0.869) الدراسة وجود علاقة سالبة بينهما. تم قياس اللون للعينات المختلفة بإستخدام جهاز قياس اللون وكانت L^* لكل من L^* النتائج كالآتى L^* 59.44-24.47 ، -62.68، و 22.02-2.40 لكل من على التوالى .كما تم حساب الرقيم التالية L^* , L^* , L^* , L^*

89.51 و 82.35-11.76 والتى تدل على درجة اللون، زاوية تدرج اللون. ومؤشر التحول البنى على التوالى