بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بره‌موم شهرستان کرج در ماه‌های مختلف و مکان‌های مختلف یک کندو

لعیا پورآزادی*، نهضتی پاقلعه، فاطمه غازیانی، سعید عباسی

گروه علوم دامی، پردیس منابع کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

دریافت: اسفند ۱۳۹۴؛ پذیرش: خرداد ۱۳۹۵

پست الکترونیک نویسنده پاسخگو: laya.pourazadi@yahoo.com

چکیده

به منظور بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی در بره‌موم پژوهشی بر روی کندوهای زنبورعسل مستقر در شهرستان کرج انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار (زمان برداشت بره‌موم) و ۶ تکرار (کندو) انجام شد. پس از برداشت نمونه‌ها، از آن‌ها عصاره اتانولی ۸۰ درصد تهیه گردید و با استفاده از روش FRAP قدرت آنتی‌اکسیدانی و با استفاده از روش DPPH فعالیت آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری شد داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SAS و با رویه glm آنالیز گردید.طبق نتایج بدست آمده قدرت آنتی‌اکسیدانی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد دارای تفاوت معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). بیشترین مقدار قدرت آنتی‌اکسیدانی در مرداد ماه ۳۳۰۵/۲۷ میکرومول بوده است.درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد دارای تفاوت معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). بیشترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی بره‌موم در مرداد ماه ۵۲/۴۲ درصد بوده است. همچنین در بین مناطق مختلف یک کندو تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما تله دارای بیشترین مقدار قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده است.

واژه‌های کلیدی: زنبورعسل، بره‌موم، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، قدرت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

زنبوران عسل حشرات اجتماعی هستند که در یک کلنی بزرگ زندگی می‌کنند به این دلیل در انتشار و انتقال پارازیت‌ها و پاتوژن‌ها در درون کندو مستعد می‌باشند[۱]. قسمت عمده تلفات در زنبوران عسل ناشی از اثرات بیماری‌ها، آفت‌کش‌ها، کسری‌های تغذیه‌ای در زمستان‌ها رخ می‌دهد [۲، ۳، ۴].یکی از مهمترین فعالیت‌های زنبوران عسل برای افزایش سطح مقاومت کندو جمع‌آوری رزین گیاهان و تولید بره‌موم است[۵]. رزین مجموعه‌ای پیچیده از ترکیبات فنولیک و ایزوپرونویید می‌باشد و یک دفاع سریع با پاسخی مناسب در برابر آفت‌ها و پاتوژن‌هاست[۶، ۷]. بره‌موم عمدتا حاوی رزین، موم و اسانس‌های روغنی است. زنبورعسل بعد از جمع‌آوری رزین گیاهان و اضافه کردن موم،در دهان خود آن را با آنزیم‌های غدد بزاقی مخلوط می‌کند و از بره‌موم حاصل برای پر کردن سوراخ‌های کندو، محکم کردن قاب‌ها، جلا دادن درون حجره‌ها و برای مومیایی کردن در کندو استفاده می‌کند[۸]. نقش اکولوژیک بره‌موم، حمایت فیزیکی وشیمیایی از کلنی در برابر پارازیت‌ها و پاتوژن‌هاست[۹]. ترکیبات زیادی از بره‌موم دارای فعالیت زیستی هستند به همین علت عصاره بره‌موم به عنوان ترکیبی با خاصیت آنتی‌اکسیدان و ضد باکتری، ضدقارچ و ضد تومور در داروهای انسان قابل استفاده است[۱۰]. فعالیت زیستی ارتباط مستقیمی با ترکیبات شیمیایی گوناگون در رزین گیاهان که توسط زنبور جمع‌آوری می‌شود دارد[۱۱]. مهمترین فعالیت

دارویی بره‌موم به علت ترکیبات فلاونوییدی و انواع فنل‌ها در آن است. همچنین بره‌موم خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد، در نتیجه قادر به مهار رادیکال‌های آزاد وحفاظت از چربی و ترکیبات دیگر مانند ویتامین C ، از تخریب طی آسیب‌های اکسیداتیو می‌شود[۱۲]. وجود ترکیباب عملکردی و خواص ضد میکروبی، آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی و میزان مناسبی از فنل کل و فلاونویید کل از بره‌موم سبب شده به عنوان ترکیبی مناسب برای تولید غذاهای کاربردی استفاده شود[۱۳]. امروزه تولید غذاهایی با خواص کاربردی مورد توجه قرار گرفته است. باتوجه به طعم تلخ و بوی گیاهان، استفاده از بره‌موم به عنوان ترکیبی که منشا گیاهی دارد به علت طعم و بوی مناسب برای تولید مکمل‌های غذایی با فعالیت زیستی مورد استقبال قرار گرفته است[۱۳]. باتوجه به خواص عسل و بره‌موم تولید عسل‌هایی با ۳ درصد از بره‌موم خواص مناسب و بازار پسندی خوبی دارد[۱۳]. بررسی بره‌موم در ایران نشان داده عصاره اتانولی بره‌موم تهران، بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی و عصاره اتانولی بره‌موم خراسان کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بوده است. پیشنهاد شده که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی در بره‌مومی با بیشترین مقدار ترکیبات فنلیک و ضعیف‌ترین فعالیت در کمترین مقدار آن اتفاق می‌افتد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی بره‌موم وابستگی زیادی به منطقه جغرافیایی که بره‌موم از آنجا برداشت می‌شود دارد [۱۴]. با ایده استفاده از بره‌موم به عنوان ترکیبی در غذاهای کاربردی، می‌توان به نیاز بررسی ترکیبات بره‌موم پی برد در نتیجه به شناسایی دقیق بره‌موم جهت استفاده در محصولات غذایی و دارویی پرداخت. با توجه به اهمیت اثر آنتی‌اکسیدانی بره‌موم در ۳ ماه مختلف بررسی شد. با این فرض که در نقاط مختلف یک کندو متفاوت بودن میزان نور و ضایعات در کندو می‌تواند اثر گذار باشد مناطق مختلفی از آن جهت بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی در نظر گرفته شد.

مواد و روش‌ها

بره‌موم مورد استفاده در این پژوهش از ۶ کلنی زنبورعسل مستقر در شهرستان کرج (پردیس کشاورزی دانشگاه تهران) که به صورت تصادفی انتخاب شدند، جمع‌آوری شد. بره‌موم در ۳ دوره یک ماهه از خرداد تا مرداد و از قسمت‌های مختلف بالای قاب، تله توری و دریچه ورودی برداشت شد. برای تهیه عصاره بره‌موم، نیم گرم از هر بره‌موم توزین شد و به آن‌ها ۲۰ سی‌سی اتانول ۸۰ درصد اضافه شد. اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی به روش FRAP و اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH انجام شد[۱۴، ۱۵]. ارزیابی‌های کیفی از طریق روش رنگ سنجی و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری uv-vis موجود در آزمایشگاه تغذیه دام پردیس کشاورزی کرج انجام گرفت.

اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی به روش FRAP:

ارزیابی قدرت آنتی‌اکسیدانی با استفاده از معرف[1] FRAP که حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر TPTZ[2](C۱۸H۱۲N۶) ۱۰ میلی‌مولار در ۴۰ میلی‌مول هیدروژن کلراید[2] و ۲/۵ میلی‌لیتر FeSO۴، ۶H۲O ۲۰ میلی‌مولار و ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۲۵ مولار است انجام شد. برای انجام آزمایش مقدار ۰/۴ میلی‌لیتر از عصاره بره‌موم با ۳/۶ میلی‌لیتر معرف FRAP مخلوط شد واز رقت‌های مختلف FeSO۴,۶H۲O (۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر)، به عنوان استاندارد استفاده شد. سپس نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه انکوبه شدن در دمای اتاق و مکان تاریک توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۹۳ نانومتر در داخل سل خوانده شدند[۱۴، ۱۵، ۱۶].

اندازه گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH:

اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی بره‌موم با روش DPPH[3] توسط برند-ویلیام و همکاران انجام شده است (Brand-Williams et a1,1995). در این روش ظرفیت مهار

1- Ferric reducing antioxidant power
2- HCl
3- 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

رادیکال آزاد به وسیله کاهش جذب DPPH در طول موج۵۱۷ نانومتر بعد از ۳۰ دقیقه اندازه گیری می‌شود. در این آزمایش میزان $۶/۵\times۱۰^{-۵}$ مول از DPPH در متانول به صورت روزانه تهیه شد، سپس ۶ میلی‌لیتر از محلول DPPH با ۳ میلی‌لیتر از عصاره بره‌موم در لوله آزمایش مخلوط گردید. این ترکیب در صورت عدم حضور مواد آنتی‌اکسیدانی و رادیکالی دارای رنگ بنفش پر رنگ است و در صورت واکنش با این ترکیبات رنگ آن به بنفش کم‌رنگ تغییر می کند. نمونه‌ها بعد از ۳۰ دقیقه انکوبه شدن در دمای اتاق و مکان تاریک توسط دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد[۱۵، ۱۶]. این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تیمار (زمان برداشت) و ۶ تکرار (کندو) انجام شد، داده ها پس از جمع آوری با استفاده از نرم افزار آماری SAS آنالیز گردیدند. مدل مورد استفاده به شرح زیر می‌باشد:

$Yij = \mu + Ti + eijk$

Yijk= صفت مورد اندازه گیری

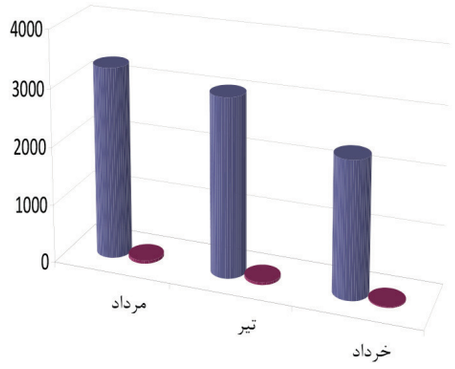
μ = میانگین کل

Ti= اثر تیمار آزمایشی

eij = اثرات باقیمانده

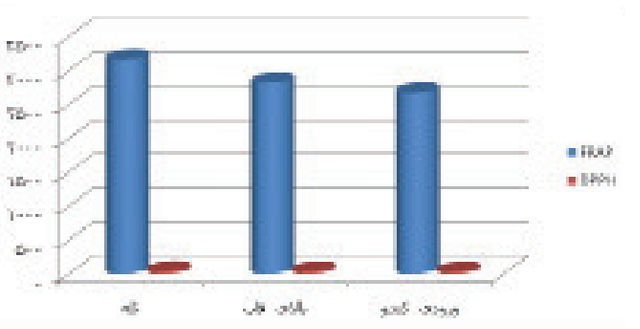
نتایج

ترکیبات شیمیایی نمونه های بره‌موم جمع آوری شده از منطقه کرج با روش عصاره گیری اتانول بر طبق روش‌های استاندارد آنالیز گردید. اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی به روش (FRAP) برپایه انتقال الکترون است و کاهش ظرفیت یک نمونه در واکنش اکسیداسیون و احیا را به صورت مستقیم اندازه‌گیری می‌کند. ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد موجود در نمونه‌ها با DPPH اندازه‌گیری می‌شود. نتایج آزمایش‌های قدرت آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت مهار آنتی‌اکسیدانی به شرح زیر است.



نمودار۱: بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی (FRAP) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) بره‌موم کرج در سه ماه

براساس آنالیز آماری قدرت آنتی‌اکسیدانی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد دارای تفاوت معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). بیشترین قدرت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های برداشت شده مرداد ماه دیده شده است.درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد دارای تفاوت معنی‌دار بوده است ($p<۰/۰۵$). بیشترین درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های برداشت شده مرداد ماه دیده شده است. قدرت آنتی‌اکسیدانی موجود در نمونه‌های جمع‌آوری شده کرج، در برداشت از قسمت‌های مختلف کندو در هیچ یک از ماه‌های خرداد، تیر و مرداد تفاوت معنی‌داری نداشته است ($P>۰/۰۵$). با این حال، بره‌موم برداشتی از تله‌ها بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی و بره‌موم برداشتی از ورودی‌ها کمترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را داشته است. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی موجود در نمونه‌های جمع‌آوری شده کرج در برداشت از قسمت‌های مختلف کندو در هیچ یک از ماه‌های خرداد، تیر و مرداد تفاوت معنی‌داری نداشته است ($P>۰/۰۵$). با این حال، بره‌موم برداشتی از تله‌ها بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی و بره‌موم برداشتی از ورودی‌ها کمترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را داشته است.



نمودار ۲: بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی (FRAP) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی (DPPH) بره‌موم در برداشت از قسمت‌های مختلف کندو

بحث

طبق نتایج حاصل از این مطالعه میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی بره‌موم در مرداد ماه به میزان ۳۳۰۵/۲۷ میکرومول بیشترین و خرداد ماه با میزان ۲۳۲۲/۵۴ میکرومول کمترین مقدار را داشته است. براساس نتایج دیگر محققین میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های بره‌موم تهران، اصفهان و خراسان دارای دامنه بین ۳۱/۵ تا ۱۶۵۰ میکرومول بوده است[۱۴]. بالاترین میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی در این تحقیق در بره‌موم برداشت شده در ماه مرداد در منطقه کرج بوده است. این نتایج نشان دهنده تفاوت فصل و مکان جغرافیایی در کیفیت بره‌موم یک کشور می‌باشد. این تفاوت در بره‌موم کشورهای دیگر از نظر میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی نیز وجود دارد. قدرت آنتی‌اکسیدانی بره‌موم شمال اسپانیا ۲۳۱۲ تا ۴۶۶۹ میکرومول گزارش شده است[۱۶]. قدرت آنتی‌اکسیدانی در بره‌موم برزیل ۵۲۸ تا ۲۰۶۸ میکرومول گزارش شده است[۱۵]. در بین کشورهای مختلف می‌توان تفاوت اقلیم و پوشش گیاهی را بر میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی بره‌موم در نظر گرفت. در بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی که بر پایه انتقال الکترون(FRAP) است، کاهش ظرفیت نمونه در واکنش اکسیداسیون و احیا اندازه‌گیری می‌شود اما در بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی(DPPH) ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در این مطالعه درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های مرداد ماه با ۵۲/۴ درصد بیشترین و خرداد ماه با میزان ۱۸/۱۴ درصد کمترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را داشته است. باتوجه به بالاتر بودن مهار رادیکال‌های آزاد در بره‌موم برداشت شده در مرداد ماه، می‌توان این فرض را داشت که برداشت بره‌موم در منطقه کرج در مرداد ماه از نظر زمان برداشت مناسب است. درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بره‌موم اسپانیا بین ۱۹/۱ تا ۴۰/۵ درد [۱۶] و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدنی بره‌موم ژاپن بین ۵/۳ تا ۴۳/۵ ٪ گزارش شده است[۱۷]. می‌توان اظهار داشت بره‌موم‌های ایران از نظر قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی دارای جایگاه مناسبی هستند. البته بسته به منشا بره‌موم اثر آنتی‌اکسیدانی بره‌موم ایران متفاوت خواهد بود، که با شناسایی مکان‌های مناسب می‌توان بره‌مومی با اثر آنتی‌اکسیدانی بالا را برداشت کرد. بره‌موم جمع‌آوری شده توسط زنبورهای کارگر به صورت خطی و منظم بر روی قاب‌ها قرار می‌گیرد و برای نظافت شان‌ها و پر کردن ترک‌ها و شکستگی‌ها، مهروموم و کاهش دریچه ورودی کندو برای دفاع بهتر، تنگ کردن سوراخ‌های تهویه، جلا دادن و ضدعفونی کردن جدار داخلی کندو و قاب‌ها، محکم کردن محل اتصال قاب‌های عسل به کندو و به یکدیگر استفاده می‌شود[۱۸]. طبق نتایج حاصل از این مطالعه درقسمت تله (توری)، میزان قدرت آنتی‌اکسیدانی ۳۱۶۶/۸۹ میکرومول و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ۴۴/۸۶ درصد بیشترین مقدار بوده است. بالاتر بودن ترکیبات فعال در قسمت توری در مقایسه با نواحی دیگر مورد مطالعه ممکن است به علت کمتر بودن ضایعات زنبور در هنگام برداشت، کمتر بودن میزان موم بعد از عصاره‌گیری باشد و همچنین بره‌موم این ناحیه نسبت به ورودی کندو کمتر تحت تاثیر تابش نورخورشید و محیط بیرون بوده است. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت

که میزان اثر آنتی‌اکسیدانی بره‌موم ایران در جایگاه مناسبی است. برداشت بره‌موم بهتر است از قسمت تله و در فصل تابستان انجام شود.

منابع

1- Schmid-Hempel, P. "Parasites and social insects." Apidologie 26 (1995): 245-245.

2- Meixner, Marina Doris. "A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them." Journal of invertebrate pathology 103 (2010): S80-S95.

3- Vanengelsdorp, Dennis, Dewey Caron, Jerry Hayes, Robyn Underwood, Mark Henson, Karen Rennich, Angela Spleen et al. "A national survey of managed honey bee 2010–11 winter colony losses in the USA: results from the Bee Informed Partnership." Journal of Apicultural Research 51, no. 1 (2012): 115-124.

4- Alaux, Cédric, François Ducloz, Didier Crauser, and Yves Le Conte. "Diet effects on honeybee immunocompetence." Biology Letters (2010): rsbl20090986.

5- Simone, Michael, Jay D. Evans, and Marla Spivak. "Resin collection and social immunity in honey bees." Evolution 63, no. 11 (2009): 3016-3022.

6- Stepp, John Richard. "Plant Resins. Chemistry, Evolution, Ecology, Ethnobotany: Daniel F. Austin, Book Review Editor." Economic Botany 57, no. 3 (2003): 419-420.

7- Whitham, THOMAS G. "Host manipulation of parasites: within-plant variation as a defense against rapidly evolving pests." Variable plants and herbivores in natural and managed systems (1983): 15-41.

8- Viuda-Martos, M., Y. Ruiz-Navajas, J. Fernández López, and J. A. Pérez-Álvarez. "Functional properties of honey, propolis, and royal jelly." Journal of food science 73, no. 9 (2008): R117-R124.

9- Popova, M., M. Reyes, Y. Le Conte, and V. Bankova. "Propolis chemical composition and honeybee resistance against Varroa destructor." Natural product research 28, no. 11 (2014): 788-794.

10- Banskota, A. H., Y. Tezuka, I. K. Adnyana, E. Ishii, K. Midorikawa, K. Matsushige, and S. Kadota. "Hepatoprotective and anti-Helicobacter pylori activities of constituents from Brazilian propolis." Phytomedicine 8, no. 1 (2001): 16-23.

11- Popova, Milena, Rosa Dimitrova, Hassan Talib Al-Lawati, Iva Tsvetkova, Hristo Najdenski, and Vassya Bankova. "Omani propolis: chemical profiling, antibacterial activity and new propolis plant sources." Chemistry Central Journal 7, no. 1 (2013): 158.

12- Marcucci, M. C. "Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity." Apidologie 26, no. 2 (1995): 83-99.

13- Osés, S. M., A. Pascual-Maté, M. A. Fernández-Muiño, T. M. López-Díaz, and M. T. Sancho. "Bioactive properties of honey with propolis." Food chemistry 196 (2016): 1215-1223.

14- Mohammadzadeh, Shiva, Mohammad Sharriatpanahi, Manoochehr Hamedi, Yaghoub Amanzadeh, Seyed Esmaeil Sadat Ebrahimi, and Seyed Nasser Ostad. "Antioxidant power of Iranian propolis extract." Food Chemistry 103, no. 3 (2007): 729-733.

15- Cottica, Solange M., Alexandra CH Sawaya, Marcos N. Eberlin, Selma L. Franco, Lucia M. Zeoula, and Jesuí V. Visentainer. "Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction." Journal of the Brazilian Chemical Society 22, no. 5 (2011): 929-935.

16- Bonvehí, Josep Serra, and Arrate Lacalle Gutiérrez. "Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain)."Journal of the American Oil Chemists' Society 88, no. 9 (2011): 1387-1395.

17- Nagai, Takeshi, Reiji Inoue, Hachiro Inoue, and Nobutaka Suzuki. "Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis." Food Chemistry 80, no. 1 (2003): 29-33.

18- R. Krell, “ Value-added products from beekeeping,” Food & Agriculture Org, 1996.

Measuring antioxidant capacity and antioxidant activity of propolis Karaj City In different months and different places a hive

Pourazadi,L.* Nehzati, G., Gghaziani, F., Abbasi, A.

Department of Animal Sciences, College of agriculture & Natural Resourses, University of Tehran, Karaj, Iran

Our purpose aim in this study is to determineantioxidant powerand antioxidant capacity compounds from honey bee hives setteled in Karaj. For this purpose, through Completely Random Design with 3 treatments (propolis harvesting time), and 6 repetitions(hive), the propolis from 6 hives were used in June, July , and August. After harvesting the samples ethanol extract was prepared, afterwards standard methods were used for evaluation. In order to gage to measure Antioxidant potency FRAP method, and to measure Antioxidant activity DPPH method were used. The collected data were analyzed with SAS software by GLM method. The results showed thatAntioxidant power between the months of August and July to June was significantly different (0/05>p). The highest amount of antioxidant power of propolis in August were at a rate of 3305/27 µmol.The antioxidant activity between August and July and June were significantly different (0/05>p). The highest amount of antioxidant activity of propolis in August were at a rate of 52/42 percent. There was no significant difference between different regions as well as in a hive, but traps was the highest amount of antioxidant power and antioxidant activity.

Key words: Honeybee, Propolis,Active Ingredient,Antioxidant power