



## بررسی قدرت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنتی اکسیدانی بره موم شهرستان کرج در ماه‌های مختلف و مکان‌های مختلف یک کندو

لایا پورآزادی\*، نهضتی پاتلمه، 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 آنتی اکسیدانی در بره موم پژوهشی بر روی کندوهای زنبور عسل مستقر در شهرستان کرج انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تیمار (زمان برداشت بره موم) 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 آنتی اکسیدانی و با استفاده از روش DPPH فعالیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شد داده‌های جمع آوری شده با نرم افزار SAS و با رویه glm آنالیز گردید. طبق نتایج بدست آمده قدرت آنتی اکسیدانی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد دارای تفاوت معنی دار بوده است ( $p < 0/05$ ). بیشترین مقدار قدرت آنتی اکسیدانی در مرداد ماه ۳۳۰۵/۲۷ میکرومول بوده است. درصد فعالیت آنتی اکسیدانی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد دارای تفاوت معنی دار بوده است ( $p < 0/05$ ). بیشترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی بره موم در مرداد ماه ۵۲/۴۲ درصد بوده است. همچنین در بین مناطق مختلف یک کندو تفاوت معنی داری مشاهده نشد اما تله دارای بیشترین مقدار قدرت آنتی اکسیدانی و فعالیت آنتی اکسیدانی بوده است.

**واژه‌های کلیدی:** زنبور عسل، بره موم، فعالیت آنتی اکسیدانی، قدرت آنتی اکسیدانی

### مقدمه

است. زنبور عسل بعد از جمع آوری رزین گیاهان و اضافه کردن موم، در دهان خود آن را با آنزیم‌های غدد بزاقی مخلوط می‌کند و از بره موم حاصل برای پر کردن سوراخ‌های کندو، محکم کردن قاب‌ها، جلا دادن درون حجره‌ها و برای مومیایی کردن در کندو استفاده می‌کند [۸]. نقش اکولوژیک بره موم، حمایت فیزیکی و شیمیایی از کلنی در برابر پارازیت‌ها و پاتوژن‌هاست [۹]. ترکیبات زیادی از بره موم دارای فعالیت زیستی هستند به همین علت عصاره بره موم به عنوان ترکیبی با خاصیت آنتی اکسیدان و ضد باکتری، ضد قارچ و ضد تومور در داروهای انسان قابل استفاده است [۱۰]. فعالیت زیستی ارتباط مستقیمی با ترکیبات شیمیایی گوناگون در رزین گیاهان که توسط زنبور جمع آوری می‌شود دارد [۱۱]. مهمترین فعالیت

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، آفت کش‌ها، کسری‌های تغذیه‌ای در زمستان‌ها رخ می‌دهد [۲، ۳، ۴]. یکی از مهمترین فعالیت‌های زنبوران عسل برای افزایش سطح مقاومت کندو جمع آوری رزین گیاهان و تولید بره موم است [۵]. رزین مجموعه‌ای پیچیده از ترکیبات فنولیک و ایزوپروپونوئید می‌باشد و یک دفاع سریع با پاسخی مناسب در برابر آفت‌ها و پاتوژن‌هاست [۶، ۷]. بره موم عمدتاً حاوی رزین، موم و اسانس‌های روغنی





### مواد و روش ها

بره موم مورد استفاده در این پژوهش از ۶ کلنی زنبور عسل مستقر در شهرستان کرج (پردیس کشاورزی دانشگاه تهران) که به صورت تصادفی انتخاب شدند، جمع آوری شد. بره موم در ۳ دوره یک ماهه از خرداد تا مرداد و از قسمت های مختلف بالای قاب، تله توری و دریچه ورودی برداشت شد. برای تهیه عصاره بره موم، نیم گرم از هر بره موم توزین شد و به آن ها ۲۰ سی سی اتانول ۸۰ درصد اضافه شد. اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی به روش FRAP و اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی به روش DPPH انجام شد [۱۴، ۱۵]. ارزیابی های 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 آنتی اکسیدانی با استفاده از معرف<sup>۱</sup> FRAP که حاوی ۲/۵ میلی لیتر<sup>۲</sup> TPTZ (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>6</sub>) ۱۰ میلی مولار در ۴۰ میلی مول هیدروژن کلراید<sup>۲</sup> و ۲/۵ میلی لیتر FeSO<sub>4</sub>، ۶H<sub>2</sub>O ۲۰ میلی مولار و ۲۵ میلی لیتر بافر استات ۰/۲۵ مولار است انجام شد. برای انجام آزمایش مقدار ۰/۴ میلی لیتر از عصاره بره موم با ۳/۶ میلی لیتر معرف FRAP مخلوط شد و از رقت های مختلف FeSO<sub>4</sub>·۶H<sub>2</sub>O (۱۰۰ تا ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر)، به عنوان استاندارد استفاده شد. سپس نمونه ها 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 آنتی اکسیدانی به روش DPPH:

اندازه گیری فعالیت آنتی اکسیدانی بره موم با روش<sup>۳</sup> DPPH توسط برند-ویلیام و همکاران انجام شده است (Brand-Williams et al, 1995). در این روش ظرفیت مهار

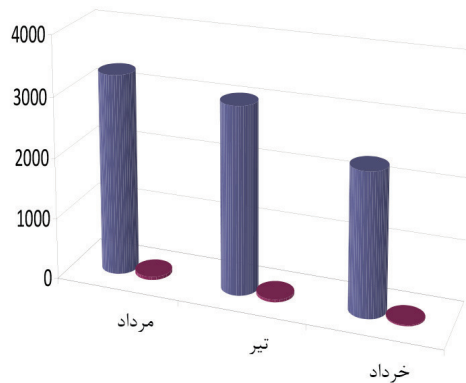
1- Ferric reducing antioxidant power

2- HCl

3- 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

دارویی بره موم به علت ترکیبات فلاونوئیدی و انواع فنل ها در آن است. همچنین بره موم خاصیت آنتی اکسیدانی قوی دارد، در نتیجه قادر به مهار رادیکال های آزاد و حفاظت از چربی و ترکیبات دیگر مانند ویتامین C، از تخریب طی آسیب های اکسیداتیو می شود [۱۲]. وجود ترکیبات عملکردی و خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و ضد التهابی و میزان مناسبی از فنل کل و فلاونوئید کل از بره موم سبب شده به عنوان ترکیبی مناسب برای تولید غذاهای کاربردی استفاده شود [۱۳]. امروزه تولید غذاهایی با خواص کاربردی مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به طعم تلخ و بوی گیاهان، استفاده از بره موم به عنوان ترکیبی که منشا گیاهی دارد به علت طعم و بوی مناسب برای تولید مکمل های غذایی با فعالیت زیستی مورد استقبال قرار گرفته است [۱۳]. با توجه به خواص عسل و بره موم تولید عسل هایی با ۳ درصد از بره موم خواص مناسب و بازار پسندی خوبی دارد [۱۳]. بررسی بره موم در ایران نشان داده عصاره اتانولی بره موم تهران، بالاترین قدرت آنتی اکسیدانی و عصاره اتانولی بره موم خراسان کمترین خاصیت آنتی اکسیدانی را دارا بوده است. پیشنهاد شده که فعالیت آنتی اکسیدانی قوی در بره مومی با بیشترین مقدار ترکیبات فنلیک و ضعیف ترین فعالیت در کمترین مقدار آن اتفاق می افتد. فعالیت آنتی اکسیدانی بره موم وابستگی زیادی به منطقه جغرافیایی که بره موم از آنجا برداشت می شود دارد [۱۴]. با ایده استفاده از بره موم به عنوان ترکیبی در غذاهای کاربردی، می توان به نیاز بررسی ترکیبات بره موم پی برد در نتیجه به شناسایی دقیق بره موم جهت استفاده در محصولات غذایی و دارویی پرداخت. با توجه به اهمیت اثر آنتی اکسیدانی بره موم در ۳ ماه مختلف بررسی شد. با این فرض که در نقاط مختلف یک کندو متفاوت بودن میزان نور و ضایعات در کندو می تواند اثر گذار باشد مناطق مختلفی از آن جهت بررسی اثر آنتی اکسیدانی در نظر گرفته شد.





نمودار ۱: بررسی قدرت آنتی‌اکسیدانی (FRAP) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

(DPPH) بره‌موم کرج در سه ماه

بر اساس آنالیز آماری قدرت آنتی‌اکسیدانی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد دارای تفاوت معنی‌دار بوده است ( $p < 0.05$ ). 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 ( $p < 0.05$ ). 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 ( $P > 0.05$ ). 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 ( $P > 0.05$ ). با این حال، بره‌موم برداشتی از تله‌ها بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی و بره‌موم برداشتی از ورودی‌ها کمترین قدرت آنتی‌اکسیدانی را داشته است.

رادیکال آزاد به وسیله کاهش جذب DPPH در طول موج ۵۱۷ نانومتر بعد از ۳۰ دقیقه اندازه‌گیری می‌شود. در این آزمایش میزان ۵-۱۰×۶/۵ 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 پررنگ است و در صورت واکنش با این ترکیبات رنگ آن به بنفش کم‌رنگ تغییر می‌کند. 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 کاملاً تصادفی با ۳ تیمار (زمان برداشت) و ۶ تکرار (کندو) انجام شد، داده‌ها پس از جمع‌آوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS آنالیز گردیدند. مدل مورد استفاده به شرح زیر می‌باشد:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ijk}$$

$Y_{ijk}$  = صفت مورد اندازه‌گیری

$\mu$  = میانگین کل

$T_i$  = اثر تیمار آزمایشی

$e_{ij}$  = اثرات باقیمانده

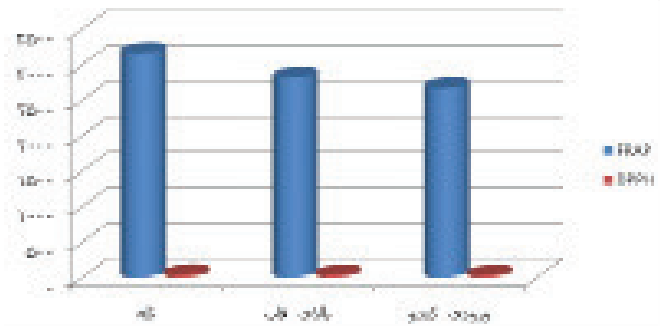
## نتایج

ترکیبات شیمیایی نمونه‌های بره‌موم جمع‌آوری شده از منطقه کرج با روش عصاره‌گیری اتانول بر طبق روش‌های استاندارد آنالیز گردید. اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی به روش (FRAP) بر پایه 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.





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. با توجه 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 درصد [۱۶] و درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی 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، مهرموم و کاهش دریاچه ورودی کندو برای دفاع بهتر، تنگ کردن سوراخ‌های تهویه، جلا دادن و ضد عفونی 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 در قسمت 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 نور خورشید و محیط بیرون بوده است. از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت



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







16-23.

11- Popova, Milena, Rosa Dimitrova, Hassan Talib Al-La-wati, 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 Hamed, Yaghoob 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 Jesu 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.

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 Ducloux, 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):





## 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 Resources, University of Tehran, Karaj, Iran

Our purpose aim in this study is to determine antioxidant power and antioxidant capacity compounds from honey bee hives settled 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 gauge 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 that Antioxidant 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  $3305/27 \mu\text{mol}$ . 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

