Iranian Journal of Animal Science
Vol 47, No 4, Winter 2017 (499-506)
DOI: 10.22059/ijas.2017.202821.653431

علوم دامی ایران
دورهٔ ۴۷، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۵ (ص ۵۰۶-۴۹۹)

ارزیابی کمی و کیفی ترکیب‌های فنلی و فعالیت پاداکسندگی بره‌موم شهرستان کرج

لعیا پورآزادی[۱]، غلامعلی نهضتی پاقلعه[۲*]، فاطمه غازیانی[۲] و سعید عباسی[۱]
۱ و ۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۸/۲٤)

چکیده

به‌منظور تعیین میزان کمی و کیفی ترکیب‌های شیمیایی و بررسی زمان مناسب برداشت بره‌موم این پژوهش روی کندوهای زنبورعسل مستقر در شهرستان کرج انجام گرفت. بدین منظور آزمایشی در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار (زمان برداشت بره‌موم) و شش تکرار (کندو) انجام شد. پس از برداشت نمونه‌ها، از آن‌ها عصارهٔ اتانولی تهیه و سپس با روش‌های استاندارد برای ارزیابی ترکیب‌ها اقدام شد. برای اندازه‌گیری میزان فنل از روش فولین، برای اندازه‌گیری فلاونویید از روش آلومینیوم کلراید، برای اندازه‌گیری توان پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) از روش FRAP و برای اندازه‌گیری فعالیت پاداکسندگی از روش DPPH استفاده شد. داده‌های گردآوری‌شده با نرم‌افزار SAS و با رویهٔ glm تجزیه‌وتحلیل شد. بر پایهٔ نتایج به‌دست‌آمده، بره‌موم برداشت‌شده از کندوها در مردادماه با میزان فنل ۲۱٦/۷۰ میلی‌گرم بر گرم و فلاونویید ٦۱/٦۹ میلی‌گرم بر گرم، توان پاداکسندهٔ ۳۳۰۵/۲۷µmol و درصد فعالیت پاداکسندگی ۵۲/٤۲ درصد، نسبت به بره‌موم برداشت‌شده در ماه‌های خرداد و تیر کیفیت بالاتر و تفاوت معنی‌داری داشته است.

واژه‌های کلیدی: بره‌موم، ترکیب‌های فعال، زنبورعسل، کیفیت.

Evaluation the quality and quantity of phenolic compound and antioxidant activity of propolis in the vicinity of Karaj

Laya Pourazadi[1], Gholam Ali Nehzati[2]*, Fatemeh Ghaziani[2] and Saeed Abbasi[1]
1, 2. Former M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Animal Science, University College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
(Received: Apr. 9, 2016 - Accepted: Nov. 14, 2016)

ABSTRACT

This experiment was conducted to determine the quality and quantity of chemical compounds and the proper harvesting time of propolis form honey bee hives in Karaj. A completely randomized design with three treatments (propolis harvesting time) and six replicated (hives) were used. Propolis samples were collected from hives in June, July and August. Ethanol extract was prepared from samples and standard methods were used for evaluation. Methods of pholin, FRAP, and Alominium chloride were used to measure phenol level, felavenoide, and antioxidant patency respectively. The results showed that amount of phenol, felavenoide and antioxidant potency were 216.7 mg/gr, 61.69 mg/gr, and 3305.27 µmol respectively and antioxidant activity was 52.42%. these amounts were higher than the qualities of samples harvested in June and July.

Keywords: Active Ingredients, honey bee, propolis, quality.

* Corresponding author E-mail: nehzati@ut.ac.ir Tel: +98 26 32221482

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

بره‌موم یک مادهٔ رزینی با طیف رنگی متفاوت است که توسط زنبورعسل از جوانه و دیگر بخش‌های گیاهان مختلف از جمله خانوادهٔ کاج، سرو و صنوبر گردآوری می‌شود. مادهٔ اولیه گیاهی پس از گردآوری تحت تأثیر آنزیم‌های متفاوت مترشحه از غده‌های بزاقی زنبورعسل، آبکافت (هیدرولیز) می‌شود. ترکیب‌های شیمیایی بره‌موم از نظر کیفی و کمی بسته به پوشش گیاهی در هر منطقه متغیر است، اما به‌طور طبیعی از ۵۰ درصد صمغ (به‌طور عمده فلاونوییدها و اسیدهای فنلی)، ۳۰ درصد موم، ۱۰ درصد اسانس‌های روغنی، ۵ درصد گردهٔ گل و ۵ درصد ترکیب‌های مختلف دیگر تشکیل شده است (Krell, 1996). بره‌موم، یک داروی با ارزش طبیعی است که طیف گسترده‌ای از فعالیت‌های زیستی (بیولوژیک) مانند ضد سرطان، پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان)، ضدالتهاب، آنتی‌بیوتیک، ضد قارچ و ضد کبد سمی آنتی‌هپاتوکسیک دارد (Banskota, 2001; Burdock, 1998; Castaldo *et al*., 2002).

به دلیل سودمندی‌های فراوان و تأثیر جانبی کم به‌عنوان یک مادهٔ افزودنی به داروها و نگهدارندهٔ غذا، برای پیشگیری از بیماری و حفظ سلامت انسان، کاربردهای زیادی دارد. تولید بره‌موم برای زنبورداران باعث افزایش درآمد و در پزشکی و بهداشت موجب ارتقاء سلامتی می‌شود. شناسایی کیفیت بره‌موم به دلیل کاربرد آن در پزشکی اهمیت فراوانی دارد، ولی هنوز سامانهٔ درست و مناسبی برای کنترل کیفیت بره‌موم و تولید آن در بیشتر کشورها وجود ندارد. تا هنگامی‌که یک استاندارد کیفی مناسب تهیه نشود، استفاده از بره‌موم در پزشکی پیشرفته امکان‌پذیر نخواهد بود (Stan *et al*., 2011).

بره‌موم یک محصول فرعی کندو با ترکیب‌های متفاوت بوده که عمده‌ترین آن‌ها ترکیب‌های فنلی هستند. پلی‌فنل‌ها جزو ترکیب‌هایی هستند که موجب کاهش خطر ایجاد بیماری‌هایی مانند سرطان و ناراحتی‌های قلبی و عروقی می‌شوند و این تأثیر به علت فعالیت پاداکسندگی (آنتی‌اکسیدانی) آن‌هاست. پلی‌فنل‌ها مانند فنلیک‌اسیدها و فلاونوییدها ترکیب‌های اصلی بره‌موم بوده که برای سلامتی انسان (اثر دارویی و زیستی یا بیولوژیک) سودمندند و ویژگی مهار رادیکال‌های آزاد را دارد (Chang *et al*., 2002). ترکیب‌های فنلی یک گروه از متابولیت‌های ثانویهٔ معطر (آروماتیک) گیاهی‌اند که به‌صورت گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند و تأثیر زیستی چندی چون فعالیت پاداکسندگی و فعالیت ضدباکتریایی دارند. ترکیب‌های فنلی به دو دستهٔ چربی‌دوست و آب‌دوست تقسیم می‌شود. بخش آب‌دوست با آب یا حلال‌های آلی قطبی قابل استخراج است (Kumaran, 2006).

بررسی‌ها نشان داده‌اند، بره‌موم توانایی مهار رادیکال‌های آزاد و در نتیجه محافظت از چربی (لیپید) و دیگر ترکیب‌ها مانند ویتامین c از اکسید شدن یا نابود شدن در طی تخریب اکسایشی (اکسیداتیو) را دارد (Popeskovic, 1980). امروزه بره‌موم در نوشیدنی‌ها و غذاهای سالم برای بهبود سلامت و جلوگیری از بیماری‌های مانند التهاب، امراض قلبی، دیابت و حتی سرطان خواهان دارد (Banskota, 2000; Burdock, 1998).

فلاونوییدها به شکل آزاد و گلیکوزیدی یافت می‌شوند و بزرگ‌ترین گروه فنل‌های موجود در طبیعت را تشکیل می‌دهند. فلاونوییدها از مشتقات فنیل‌پروپانویید با ساختمان ۱۵ کربنه هستند. فلاونوییدها باعث افزایش مقاومت به عامل‌های بیماری‌زا در گیاهان می‌شوند همچنین جذب‌کنندهٔ قوی اشعهٔ ماورای بنفش(۳۴۰-۲۵۰ نانومتر) هستند. فلاونوییدها از راه مهار عنصرهای کاتالیزشده از اکسایش (اکسیداسیون) جلوگیری می‌کنند. از دیگر ویژگی‌های این مواد می‌توان به خاصیت جمع‌کنندگی مواد زائد اشاره کرد. فلاونوییدها مهارکنندهٔ یاخته‌های سرطانی از راه بیان ژن، افزایش‌دهندهٔ ایمنی بدن (پاداکسنده)، ضدویروس، ضد باکتری، ضد تورم، ضد التهاب، ضد آلرژی، ضد جهش (موتاسیون)، کاهش‌دهندهٔ نفوذپذیری و شکنندگی مویرگ‌ها هستند (Rice Evans, 2004).

نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد بسیاری از بیماری‌ها به اثبات رسیده است. واکنش‌های بیوشیمیایی چندی در بدن، اکسیژن فعال تولید

Archive of SID

www.SID.ir

می‌کنند که توانایی تخریب مولکول‌ها را دارند. مواد پاداکسندگی این تأثیر زیان‌بخش رادیکال‌های آزاد را سد می‌کند. این ترکیب‌ها موجب به دام‌اندازی رادیکال‌های آزاد و سمیت‌زدایی می‌شوند. پاداکسنده‌های مصنوعی (سنتزی) عیب‌هایی دارد که برخی از آن‌ها، آسیب کبدی و سرطان است. بنابراین وجود پاداکسنده‌های طبیعی قوی با اثربخشی بیشتر یک ضرورت جدی است (Chung, 2006). با استفاده از DPPH فعالیت پاداکسندگی نمونه‌ها و با روش FRAP[1] توان پاداکسندگی نمونه‌ها بررسی می‌شود که با بررسی هر دو روش می‌توان ظرفیت پاداکسندگی نمونه‌ها را ارزیابی کرد. DPPH یا ۲و۲-دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل یک پودر بلورین (کریستال) تیره است که مولکول‌های آن در برابر رادیکال‌های آزاد پایدار است. این ترکیب، یک رادیکال شناخته شده است که برای به دام انداختن رادیکال‌های آزاد دیگر بر پایهٔ توانایی هیدروژن‌دهی استفاده می‌شود (Stan *et al.*, 2011). این روش به‌منظور ارزیابی فعالیت رادیکال آزاد به کار می‌رود و از برتری‌های آن وابستگی نداشتن به قطبیت نمونه است. در آزمایش FRAP که برای اندازه‌گیری توان پاداکسنده[2] است، بر پایهٔ انتقال الکترون استوار است و به‌صورت مستقیم این انتقال را اندازه‌گیری می‌کند. توان احیاکنندگی مواد موجود در نمونه با احیای آهن ۳ به آهن ۲ با توانایی در دادن الکترون سنجیده می‌شود. احیای آهن اغلب به‌عنوان شاخص فعالیت الکترون‌دهی به کار می‌رود که سازوکار مهمی در عمل پاداکسندگی مواد فنلی است (Hinneburg, 2006).

ترکیب‌های شیمیایی بره‌موم بر پایهٔ زمان برداشت، منطقهٔ تولید، شرایط آب و هوایی و محل گردآوری از کندو تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Falcão *et al.*, 2013). برای بررسی تأثیر محل جغرافیایی روی ترکیب‌های فنل بره‌موم، بررسی روی نمونه‌هایی از مناطق مختلف عرض جغرافیایی ایران شامل مناطق تهران، اصفهان و خراسان تهیه و توان پاداکسندگی عصارهٔ اتانولی بره‌موم با آزمایش FRAP انجام شده است. نتایج آزمایش‌ها نشان داده است که توان پاداکسندگی، فنل کل و فلاونویید کل عصارهٔ اتانولی بره‌موم تهران بالاترین و خراسان کمترین میزان را داشته است. نتایج آن‌ها نشان داد، فعالیت پاداکسندگی بره‌موم برداشت‌شده وابستگی زیادی به منطقهٔ جغرافیایی دارد (Mohammadzadeh *et al.*, 2007).

در ارتباط با میزان تولید بره‌موم و پوشش گیاهی مختلف، ده کلنی زنبورعسل با گیاهان پهن‌برگ و سوزنی‌برگ، به ترتیب در دو منطقهٔ خجیر و تلو در نزدیکی تهران بررسی شده است. نتایج آزمایش‌ها نشان داده است که وجود درختان پهن‌برگ در نزدیکی کلنی زنبورعسل به نحو مؤثری تولید بره‌موم را افزایش می‌دهند و میزان بره‌موم تولیدشده در خجیر بیشتر از تلو بوده است. آن‌ها گزارش کردند گیاهان پهن‌برگ و گیاهان سوزنی‌برگ از نظر ویژگی‌های کیفی برای تولید بره‌موم مناسب هستند، ولی بره‌موم از گیاهان پهن‌برگ کیفیت بهتری دارد (Afroozan *et al.*, 2007).

برای شناسایی ترکیب‌های موجود در بره‌موم مناطق مختلف استان گیلان (چابکسر، سیاه‌چال و تالش)، با پوشش غالب درختان مرکبات، درختان جنگلی و سوزنی‌برگ، ۲۰ کلنی زنبورعسل بررسی شده است. نتایج نشان داد که نمونه‌های بره‌موم برداشتی از سه پوشش گیاهی مختلف در استان گیلان مقادیر مناسبی از ترکیب‌های فلاونوییدی داشته و تنها نوع و میزان این ترکیب‌ها در نمونه‌ها متفاوت هستند. بره‌موم با پوشش گیاهان سوزنی‌برگ که در بهار برداشت‌شده است ۶۲ درصد صمغ، ۲۸ درصد ترکیب‌های فنلیک و ۱۱ درصد فلاونویید داشته است درحالی‌که بره‌موم‌هایی با پوشش گیاهان پهن‌برگ، ۴۷ درصد صمغ، ۲۱ درصد ترکیب‌های فنلیک و ۱۶درصد فلاونویید داشته است (Yarahmadi *et al.*, 2008).

با تجزیه‌وتحلیل ترکیب‌های موجود در بره‌موم و تعیین زمان مناسب برداشت بره‌موم می‌توان به استفادهٔ بهتر از آن در داروسازی، پزشکی و همچنین تولید لوازم‌آرایشی کمک کرد (Bankova, 2005). برای استفادهٔ گسترده از بره‌موم داشتن ارزیابی دقیقی از ترکیب‌های آن برای تعیین کیفیت بره‌موم سودمند

1. Ferric Reducing Antioxidant power

Archive of SID

www.SID.ir

خواهد بود با توجه به اهمیت برهموم از لحاظ نحوهٔ برداشت، زمان برداشت و منابع گیاهی که برهموم از آن تأمین می‌شود این بررسی طراحی و انجام شد.

مواد و روش‌ها

روش گردآوری برهموم

برهموم مورد استفاده در این پژوهش از شش کندوی زنبورعسل مستقر در شهرستان کرج (پردیس کشاورزی دانشگاه تهران) گردآوری شد. برداشت برهموم در سه دورهٔ یک‌ماهه از خرداد تا مرداد انجام گرفت. ارزیابی‌های کیفی از روش رنگ‌سنجی و با استفاده از دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفتومتری) uv-vis موجود در آزمایشگاه تغذیهٔ دام پردیس کشاورزی کرج انجام گرفت.

تهیهٔ عصارهٔ برهموم

برهموم‌ها پس از گردآوری در محیطی تاریک و در دمای ۲۰- درجهٔ سلسیوس در فریزر نگهداری شدند. برای عصاره‌گیری نمونه‌های برهموم از روش اتانولی استفاده شد. برای تهیهٔ عصاره، ۰/۵ گرم از هر برهموم توزین شد و به آن‌ها ۱۰ سی‌سی اتانول ۸۰ درصد اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت، در مکان تاریک قرار گرفتند. این کار موجب نرم شدن نمونه‌ها شد و پس از ۲۴ ساعت نمونه‌ها با دستگاه فراصوتی (اولتراسونیک) به مدت سی دقیقه تیمار شدند و حالت پودری پیدا کردند. سپس نمونه‌ها به مدت پانزده دقیقه با ۳۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ شدند. عمل استخراج یک بار دیگر تکرار و محلول‌های جداشده، مخلوط شدند. پس از سانتریفیوژ دوباره، الکل روی برهموم‌ها را روی الکل پیشین ریخته و تا زمان اندازه‌گیری ترکیب‌های شیمیایی در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس در یخچال نگهداری شد.

اندازه‌گیری فنل کل با روش رنگ‌آمیزی فولین

محتوای فنل کل موجود در برهموم با استفاده از روش فولین اندازه‌گیری شد (Bonvehı & Coll, 2000). عصارهٔ اتانولی برهموم با ۰/۸ میلی‌لیتر فولین (رقیق‌شده با آب به نسبت ۱:۱) و ۱/۲ میلی‌لیتر از سدیم‌کربنات ۲۰درصد مخلوط شد، سدیم کربنات به خاطر قلیایی شدن محیط، سبب فعالیت بهتر فولین می‌شود. رقت‌های مختلف گالیک‌اسید بین ۱۵ تا ۲۰۰ میلی‌گرم بر گرم به‌عنوان استاندارد تهیه شد. لوله‌ها برای انکوبه شدن در دمای اتاق و در مکان تاریک به مدت ۲۵ دقیقه قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ده دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و با دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۷۲۵ نانومتر درون سل خوانده شدند (Mohammadzadeh *et al*., 2007; Popova *et al*., 2007; Bonvehí & Gutiérrez, 2011; Cottica *et al*., 2011).

اندازه‌گیری فلاونویید کل با روش آلومینیوم کلراید

یکی از روش‌های اندازه‌گیری فلاونویید کل با استفاده از آلومینیوم کلراید است که به‌وسیلهٔ Chang *et al*. (2002) تکمیل شده است. در این روش ۱۰ میلی‌گرم کورستین با اتانول ۸۰درصد رقیق‌شده و از رقت‌های مختلف کورستین (۲۰ تا ۱۰۰میکرولیتر بر میلی‌لیتر) به‌عنوان استاندارد استفاده شد، ۰/۵ میلی‌لیتر از عصارهٔ اتانولی برهموم با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۶درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر از آلومینیوم کلراید ۱۰درصد که در اتانول حل شده است و ۰/۱ میلی‌لیتر از پتاسیم استات ۱ مولار و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد و در نهایت لوله‌ها در دمای اتاق و در مکان تاریک به مدت سی دقیقه قرار گرفتند سپس با دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۴۱۵ نانومتر در داخل سل خوانده شدند (Mohammadzadeh *et al*., 2007; Bonvehí & Gutiérrez, 2011; Cottica *et al*., 2011).

اندازه‌گیری توان پاداکسندگی به روش FRAP

ارزیابی توان پاداکسندگی با استفاده از معرف FRAP حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر TPTZ($C_{18}H_{12}N_6$) ۱۰ میلی‌مولار در ۴۰ میلی‌مول هیدروژن کلراید و ۲/۵ میلی‌لیتر $FeSO_4.6H_2O$ ۲۰میلی‌مولار و ۲۵ میلی‌لیتر بافر استات ۰/۲۵ مولار انجام شد. برای انجام آزمایش میزان ۰/۴ میلی‌لیتر از عصارهٔ برهموم با ۳/۶ میلی‌لیتر معرف FRAP مخلوط شد و از رقت‌های مختلف $FeSO_4.6H_2O$ (۱۰۰ تا ۱۰۰۰میکروگرم بر میلی‌لیتر)، به‌عنوان استاندارد استفاده

Archive of SID

www.SID.ir

شد. سپس نمونه‌ها پس از سی دقیقه انکوبه شدن در دمای اتاق و مکان تاریک توسط دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۵۹۳ نانومتر در داخل سل خوانده شدند (Mohammadzadeh *et al*., 2007; Bonvehí & Gutiérrez, 2011; Benzie & Strain, 1996).

اندازه‌گیری فعالیت پاداکسندگی به روش DPPH

اندازه‌گیری فعالیت پاداکسندگی برهموم با روش DPPH توسط Brand-Williams *et al*. (1995) انجام شده است. در این روش ظرفیت مهار رادیکال آزاد با کاهش جذب DPPH در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر پس از سی دقیقه اندازه‌گیری می‌شود. در این آزمایش میزان $۶/۵\times۱۰^{-۵}$ مول از DPPH در متانول به‌صورت روزانه تهیه شد، سپس ۶ میلی‌لیتر از محلول DPPH با ۳ میلی‌لیتر از عصارهٔ برهموم مخلوط شد. این ترکیب در صورت نبود مواد پاداکسندگی و رادیکالی رنگ بنفش پررنگ دارد و در صورت واکنش با این ترکیب‌ها رنگ آن به بنفش کم‌رنگ تغییر می‌کند. نمونه‌ها پس از سی دقیقه انکوبه شدن در دمای اتاق و مکان تاریک توسط دستگاه طیف‌سنج نوری در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (Ahn *et al*., 2004; Bonvehí & Gutiérrez, 2011; Cottica *et al*., 2011; Cottica *et al*., 2014).

مدل آماری طرح

این آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با سه تیمار (زمان برداشت) و شش تکرار (کندو) انجام شد، داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیهٔ شدند. معادله مدل مورد استفاده به شرح زیر است:

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

Y_{ijk}= صفت مورد اندازه‌گیری

μ= میانگین کل

T_i= اثر تیمار آزمایشی

e_{ij} = اثر عوامل باقی‌مانده

نتایج

ترکیب‌های شیمیایی نمونه‌های برهموم گردآوری‌شده از منطقهٔ کرج با روش عصاره‌گیری اتانول با روش‌های استاندارد تجزیه شد. نتایج آزمایش‌های فنل، فلاونویید، فعالیت و توان پاداکسندگی نمونه‌ها در جدول‌های ۱ تا ۴ آمده است.

جدول ۱. مقایسهٔ میانگین فنل در ماه‌های مختلف

Table 1. Comparing the average phenol in difference months

Month	Mean (mg/g)	SE
August	216.70[a]	18.59
July	165.85[b]	16.05
June	158.26[b]	14.24

حرف‌های ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است.

Dissimilar letters in each column indicate significant differences ($P<0.05$).

میزان فنل در ماه‌های خرداد و تیر با مرداد تفاوت معنی‌دار داشته است ($p<۰/۰۵$). بالاترین فنل در نمونه‌های برداشت‌شده مردادماه و کمترین آن در نمونه‌های برداشتی خردادماه بوده است.

جدول ۲. مقایسهٔ میانگین فلاونویید در ماه‌های مختلف

Table 2. Comparing the average flavonoid in difference months

Month	Mean (mg/g)	SE
August	61.69[a]	6.08
June	38.08[b]	4.59
July	34.71[b]	5.25

حرف‌های ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است.

Dissimilar letters in each column indicate significant differences ($P<0.05$).

میزان فلاونویید در ماه‌های خرداد و تیر با مرداد تفاوت معنی‌دار داشته است ($p<۰/۰۵$). اما میزان فلاونویید بین ماه‌های خرداد و تیر معنی‌دار نبوده است ($P>۰/۰۵$). بیشترین فلاونویید در نمونه‌های برداشت‌شده مردادماه و کمترین آن از نمونه‌های تیرماه بوده است.

جدول ۳. مقایسهٔ میانگین توان پاداکسندگی برهموم در ماه‌های مختلف

Table 3. Comparing the average antioxidant power of propolis in difference months

Month	Mean (µmol)	SE
August	3305.27[a]	343.48
July	3065.77[a]	296.88
June	2322.54[b]	295.35

حرف‌های ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) است.

Dissimilar letters in each column indicate significant differences ($P<0.05$).

Archive of SID

www.SID.ir

توان پاداکسندگی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد تفاوت معنی‌دار داشته است (p<۰/۰۵). اما میزان توان پاداکسندگی بین ماه‌های مرداد و تیر معنی‌دار نبوده است (P>۰/۰۵). بیشترین توان پاداکسندگی در نمونه‌های برداشت‌شدهٔ مردادماه دیده شده است.

جدول ۴. مقایسهٔ میانگین فعالیت پاداکسندگی بره‌موم در ماه‌های مختلف

Table 4. Comparing the antioxidant activity of propolis in difference months

Month	Mean (percent)	SE
August	52.42a	343.48
July	43.78a	296.88
June	18.14b	295.35

حرف‌های ناهمسان در هر ستون نشان‌دهندهٔ تفاوت معنی‌دار (p<۰/۰۵) است.

Dissimilar letters in each column indicate significant differences (P<0.05).

درصد فعالیت پاداکسندگی در بین ماه‌های مرداد و تیر با خرداد تفاوت معنی‌دار داشته است (p<۰/۰۵). اما درصد فعالیت پاداکسندگی در نمونه‌های تیر و مرداد معنی‌دار نبوده است (P>۰/۰۵). بیشترین درصد فعالیت پاداکسندگی در نمونه‌های برداشت‌شدهٔ مردادماه دیده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

برآورد ترکیب‌های فعال در بره‌موم می‌تواند برای ارزیابی کیفیت بره‌موم استفاده شود. بر پایهٔ نتایج این بررسی بره‌موم‌هایی با میزان فنل بالاتر، توان پاداکسندگی بالاتری نسبت به دیگر نمونه‌ها داشتند. میزان فنل در مردادماه به میزان ۲۱۶/۷۰ میلی‌گرم برگرم بیشترین و خردادماه با میزان ۱۵۸/۲۶ میلی‌گرم برگرم کمترین میزان محتوای فنل بوده است. در کشور رومانی میزان پلی فنل‌ها و فنل‌های اسیدی موجود در بره‌موم درصد ۲۲/۶۹- ۱۸/۴۳ و همچنین نوع اسیدهای آن‌ها به روش فام‌نگار (کروماتوگرافی) مایع گزارش شده است (Croci *et al*., 2009) که این میزان از میزان ترکیب‌های فنلی در ایران ۲۱/۶۷- ۱۵/۸۳ درصد بیشتر است. توان پاداکسندگی بره‌موم در مردادماه به میزان ۳۳۰۵/۲۷ میکرومول بیشترین و خردادماه با میزان ۲۳۲۲/۵۴ میکرومول کمترین میزان توان پاداکسندگی را داشته است. بر پایهٔ نتایج بررسی محمدزاده در پاییز ۸۶ میزان فنل بره‌موم تهران (۸/۴۶ درصد) در نمونه‌های اصفهان (۷/۱۱ درصد) و نمونه‌های خراسان (۳/۰۸ درصد) گزارش شده است، که این میزان پایین‌تر نسبت به میزان گزارش‌شده در این پژوهش خود گواه انتخاب مناسب زمان برداشت بره‌موم است. بنابر گزارش وی میزان توان پاداکسندگی در نمونه‌های بره‌موم تهران، اصفهان و خراسان دامنهٔ بین ۳۱/۵ تا ۱۶۵۰ میکرومول داشته است (Mohammadzadeh *et al*., 2007). میزان گزارش‌شدهٔ فنل و توان پاداکسندگی در بررسی اخیر بیشتر از گزارش‌های آن‌ها بوده که ممکن است به علت متفاوت بودن اقلیم و پوشش گیاهی و چگونگی و زمان برداشت باشد. بررسی میزان فنل و توان پاداکسندگی در مناطق دیگر نیز نشان از گسترده بودن دامنهٔ آن‌ها در مناطق مختلف دارد. میزان فنل در بره‌موم شمال اسپانیا ۲۱۰ تا ۳۴۰ میلی‌گرم بر گرم و توان پاداکسندگی آن ۲۳۱۲ تا ۴۶۶۹ میکرومول گزارش شده است (Bonvehí & Gutiérrez, 2011). میزان فنل در بره‌موم برزیل ۴۸ تا ۸۷ میلی‌گرم بر گرم و توان پاداکسندگی آن ۵۲۸ تا ۲۰۶۸ میکرومول گزارش شده است (Cottica *et al*., 2011). همان‌طور که از بررسی نتایج به‌دست‌آمده مشهود است میزان توان پاداکسندگی با افزایش میزان فنل افزایش می‌یابد. یعنی هرچه میزان فنل در یک نمونه بالاتر باشد توان پاداکسندگی در آن نمونه‌ها نیز بیشتر خواهد بود (Mohammadzadeh *et al*., 2007). میزان فنل و توان پاداکسندگی در پوشش گیاهی مختلف و عرض جغرافیایی مختلف تفاوت دارد. همچنین چگونگی برداشت و زمان برداشت متفاوت نیز در میزان فنل و توان پاداکسندگی بره‌موم مؤثر است.

در بررسی توان پاداکسندگی که بر پایهٔ انتقال الکترون است، کاهش ظرفیت نمونه در واکنش اکسایش و احیا (Redox) اندازه‌گیری می‌شود اما در بررسی فعالیت پاداکسندگی ظرفیت مهار رادیکال‌های آزاد بررسی می‌شود. بر پایهٔ نتایج بررسی‌های ما بالاترین درصد فعالیت پاداکسندگی در نمونه‌های مردادماه با ۵۲/۴ درصد بیشترین و خردادماه با میزان ۱۸/۱۴ درصد کمترین فعالیت پاداکسندگی را داشته

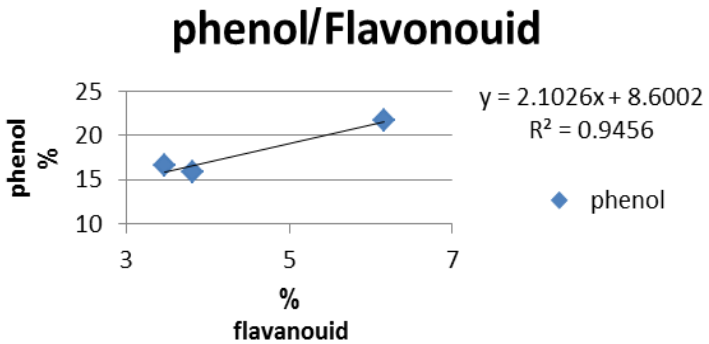
Archive of SID

www.SID.ir

است. با توجه به بالاتر بودن مهار رادیکال‌های آزاد در بره‌موم برداشت‌شده در مردادماه، می‌توان این فرض را داشت که برداشت بره‌موم در منطقهٔ کرج در مردادماه از نظر پوشش گیاهی خاص و زمان برداشت مناسب‌تر است. درصد فعالیت پاداکسندگی در بره‌موم اسپانیا بین ۱۹/۱ تا ۴۰/۵ درصد گزارش شده است (Bonvehí & Gutiérrez, 2011). درصد فعالیت پاداکسندگی بره‌موم ژاپن بین ۵/۳ تا ۴۳/۵ درصد گزارش شده است (Nagai *et al.*, 2003). می‌توان اظهار داشت بره‌موم‌های ایران از نظر توان پاداکسندگی و فعالیت پاداکسندگی جایگاه مناسبی دارند. البته بسته به منشأ بره‌موم تأثیر پاداکسندگی بره‌موم ایران متفاوت خواهد بود، که با شناسایی مکان‌های مناسب می‌توان بره‌مومی با تأثیر پاداکسندگی بالا را برداشت کرد.

در بررسی میزان فلاونویید مردادماه با میزان ۶۱/۶۹ میلی‌گرم بر گرم بیشترین و تیرماه با میزان ۳۴/۷۱ میلی‌گرم بر گرم کمترین میزان محتوای فلاونویید را داشته است. بر پایهٔ نتایج بررسی محمدزاده میزان فلاونویید در نمونه‌های تهران ۷۰/۷۹ میلی‌گرم بر گرم و در نمونه‌های اصفهان ۳۱/۸ میلی‌گرم بر گرم و در نمونه‌های خراسان ۱۲/۲ میلی‌گرم بر گرم گزارش شده است (Mohammadzadeh *et al.*, 2007). بر پایهٔ گزارش‌های یاراحمدی میزان فلاونویید در استان گیلان (چابکسر، سیاه‌چال، تالش) در سه پوشش گیاهی مرکبات، درختان جنگلی و سوزنی‌برگ به ترتیب ۱۲۳، ۱۱۴ و ۱۰۶ میلی‌گرم در گرم بوده است. محتوای فلاونویید موجود در نمونه‌های کرج بیشتر از نتایج بررسی محمدزاده و کمتر از نتایج بررسی یاراحمدی بوده است. به نظر می‌رسد پوشش گیاهی در استان گیلان برای تولید بره‌موم با میزان فلاونویید بالا مناسب خواهد بود، اما برای استقرار کندو در این مناطق باید از بالا بودن دیگر ترکیب‌های فعال موجود در بره‌موم نیز اطمینان به دست آید. فلاونویید موجود در بره‌موم کشورهای دیگر دامنهٔ متفاوتی نسبت به بره‌موم ایران داشته است. میزان فلاونویید در بره‌موم اسپانیا ۸۶ تا ۱۶۱ میلی‌گرم بر گرم گزارش شده است (Bonvehí & Gutiérrez, 2011). میزان فلاونویید در بره‌موم برزیل ۱۰ تا ۲۶ میلی‌گرم بر گرم گزارش شده است (Cottica *et al.*, 2011). میزان فلاونویید نیز مانند میزان فنل بره‌موم در مناطق مختلف دامنهٔ گسترده‌ای دارد. با توجه به متفاوت بودن دامنهٔ این ترکیب‌ها می‌توان به اهمیت بررسی کیفیت بره‌موم در مناطق مختلف پی برد. در بین مناطق بررسی شده، برداشت بره‌موم کرج در مردادماه کیفیت مناسبی دارد. از رسم منحنی میانگین فنل در مقابل میانگین فلاونویید در ماه‌های مختلف (شکل ۱) یک رابطهٔ خطی با معادلهٔ $y = 2.1023x + 86.029$ و رگرسیون ۰/۹۴۶ به دست می‌آید.

با توجه به داده‌های به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه گرفت که بره‌موم برداشت‌شده از کرج در مردادماه میزان مناسبی از ترکیب‌های مورد بررسی نسبت به خرداد و تیر دارد.



شکل ۱. رابطه تابعیت میانگین ترکیب‌های فنل از میانگین فلاوونوئید در بره‌موم برداشت‌شده در ماه‌های خرداد، تیر و مرداد

Figure 1. Regression of phenol compounds average against average Flavonoid in propolis harvested in the months of June, July and August

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES

1. Afrouzan, H., Tahmasebi, Gh., Bankova, V. & Bigdeli, M. (2007). Comparison of quantity and quality of propolis produced by gymnosperms and angiosperms plants in northeast of Tehran, Iran. *Journal of the Pajouhesh & Sazandegi*, 77, 156-162. (in Farsi)
2. Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of ethnopharmacology* 100, 114-117.
3. Banskota, A. H., Tezuka, Y., Adnyana, I. K., Midorikawa, K., Matsushige, K., Message, D., ... & Kadota, S. (2000). Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *Journal of Ethnopharmacology*, 72(1), 239-246.
4. Benzie, I. F. & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Journal of the Analytical Biochemistry* 239, 70-76.
5. Bonvehí, J. S. & Coll, F. V. (2000). Study on propolis quality from China and Uruguay. *Zeitschrift für Naturforschung c*, 55(9-10), 778-784.
6. Bonvehí, J. S. & Gutiérrez, A. L. (2011). Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 88, 1387-1395.
7. Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Journal of Food and Chemical toxicology*, 36(4), 347-363.
8. Castaldo, S. & Francesco, C. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73, S1-S6.
9. Chang, C.-C., Yang, M. H., Wen, H. M. & Chern, J. C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182.
10. Cottica, S. M., Sabik, H., Antoine, C., Fortin, J., Graveline, N., Visentainer, J. V. & Britten, M. (2014). Characterization of Canadian propolis fractions obtained from two-step sequential extraction. *LWT- Journal of the Food Science and Technology*, 60(1), 609-614.
11. Cottica, S. M., Sawaya, A. C., Eberlin, M. N., Franco, S. L., Zeoula, L. M. & Visentainer, J. V. (2011). Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22, 929-935.
12. Croci, Anda Natanela, *et al*. (2009). HPLC evaluation of phenolic and polyphenolic acids from propolis. *Journal of the Farmacia*, 57(1), 52-57.
13. Chung, Y. C., Chien, C. T., Tang, K. Y. & Chou, S. T. (2006). Antioxidative and mutagenic properties of Zanthoxylum ailanthoides Sieb & zucc. *Journal of the Food Chemistry*, 97(3), 418-425.
14. Falcão, S. I., Freire, C. & Vilas-Boas, M. (2013). A proposal for physicochemical standards and antioxidant activity of Portuguese propolis. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 90, 1729-1741.
15. Hinneburg, I., Damien Dorman, H. J. & Hiltunen, R. (2006). Antioxidant activities of selected culinary herbs and spices. *Journal of the Food Chemistry*, 97, 122-129.
16. Popeskovic, D., *et al*. (1980). The antioxidative properties of propolis and some of its components. *Journal of the Acta Veterinaria*, 30(3/4), 133-136.
17. Krell, R. (1996). *Value-added products from beekeeping, Food & Agriculture Org*
18. Kumaran, A. & Karunakaran, R. J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of Coleus aromaticus. *Journal of the Food Chemistry*, 97, 109-114.
19. Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamedi, M., Amanzadeh, Y., Sadat Ebrahimi, S. E. & Ostad, S. N. (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Journal of the Food Chemistry*, 103, 729-733. (in Farsi)
20. Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H. & Suzuki, N. (2003). Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis. *Journal of the Food Chemistry*, 80, 29-33.
21. Rice Evans, C. (2004). Flavonoids and isoflavones (absorption, metabolism and bioactivity). *Journal of the Free Radical Biology and Medicine*, 36, 827-8.
22. Stan, L., Mărghitaş, L. A. & Dezmirean, D. (2011). Quality criteria for propolis standardization. *Journal of the Animal Science and Biotechnologies*, 44, 137-140.
23. Yarahmadi, S., Aliakbar, A. & Hosseinpour, R. (2008). Flavonoids Composition in Propolis of Citrus, Forest Trees and Pines in Guilan Province. *Journal of Agricultural science (University of Tabriz)*, 18(1), 195-203. (in Farsi)

Archive of SID

www.SID.ir