

فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی دو نوع عسل حاصل از تغییر در جیره غذایی زنبور در مقایسه با دیگر عسل‌های تولیدی منطقه آستان شهرستان خرم‌آباد

امین سلاهورزبان^{۱،۲}، فواد عبدالله پور^۳، احمد اسماعیلی^۴، فرشته سپهوند^۵، مژگان آزادپور^{۶*}

۱- کارشناسی ارشد کشاورزی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۲- کارشناسی ارشد کشاورزی، مرکز گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی واحد لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۳- کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۴- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۵- پزشک عمومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۶- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم‌آباد، ایران.

یافته / دوره هفدهم / شماره ۳ / پاییز ۹۴ / مسلسل ۶۵

چکیده

دریافت مقاله: ۹۴/۶/۱۴ پذیرش مقاله: ۹۴/۷/۲۰

*** مقدمه:** عسل محصولی طبیعی از تراوشات گیاهان است که توسط زنبور عسل جمع‌آوری و پس از ایجاد تغییراتی، در کندو ذخیره می‌شود. عسل غنی از آنتی‌اکسیدان‌های مختلف از جمله کاتالاز، اسید آسکوربیک، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها می‌باشد. فعالیت ضد میکروبی عسل نیز یکی از جنبه‌های مهم آن است. وارد نمودن برخی مواد به جیره غذایی زنبور عسل نیز می‌تواند بر ارزش غذایی عسل تولیدی بیافزاید. لذا در این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی و خاصیت ضد میکروبی دو نوع عسل حاصل از تغییر در جیره غذایی زنبور بررسی و با سایر عسل‌های تولیدی منطقه مقایسه می‌گردد.

*** مواد و روش‌ها:** سه نوع تغذیه مختلف شامل آب سیب، عصاره ریشه و گل‌های شیرین بیان و گل‌های منطقه بدون تأکید بر گیاه خاصی برای زنبورها در نظر گرفته شد. فعالیت ضد میکروبی سه نوع عسل تولیدی بر روی باکتری‌های استاندارد و مخمر کاندیدا البیکنس با استفاده از روش انتشار در آگار در مقایسه با چند آنتی‌بیوتیک رایج اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، آزمون فنل تام و برای ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی از آزمون‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی معادل ترولکس و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آهن احیا شده، استفاده گردید.

*** یافته‌ها:** عسل شیرین بیان بیشترین فعالیت ضد میکروبی را علیه باکتری‌ها و مخمر را در این بررسی بخصوص علیه سودوموناس آئروجینوزا از خود نشان داد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عسل‌های مورد آزمایش دارای اختلاف معنی‌دار از نظر مقدار فنل تام بودند و عسل سیب در سه روش ارزیابی، خواص آنتی‌اکسیدانی بیشتری از خود نشان داد.

*** بحث و نتیجه‌گیری:** این با توجه به نتایج این تحقیق، تغذیه زنبورها با گیاهان دارای مواد مؤثره باعث ایجاد تحول در بخش تولید عسل دارویی و ارتقای سلامت جامعه می‌گردد.

*** واژه‌های کلیدی:** فعالیت آنتی‌اکسیدانی، خاصیت ضد میکروبی، عسل، جیره غذایی.

* آدرس مکاتبه نویسنده مسئول: خرم‌آباد، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی.

پست الکترونیک: mojganazadpour@yahoo.com

مقدمه

عسل عبارت است از ماده شیرین طبیعی تولید شده بوسیله زنبورهای عسل از شهد گل‌ها یا ترشحات بخش‌های زنده گیاهان که زنبور عسل این مواد را جمع آوری و حمل نموده و با مواد خاصی از بدن خود ترکیب کرده و در شان‌های عسل ذخیره می‌کند. همچنین این ماده غذایی یکی از هدیه‌های ارزنده و پرارزش طبیعت می‌باشد که قرآن کریم از آن به عنوان فیه شفا للناس (شفای مردم در آن است) یاد می‌کند (۱).

عسل یک محصول غذایی مفید و یک اکسیر پرارزش بوده که از قرن‌ها پیش به عنوان عالیترین و مقوی‌ترین غذاها شناخته شده است. همچنین هزاران سال است که با هدف درمان جراحات و بیماری‌ها مورد استفاده بشر قرار گرفته است. شواهد تاریخی موید آن است که مصریان، آشوریان و یونانیان از جمله اقوام کهنی هستند که از عسل همراه با گیاهان دارویی و یا به تنهایی برای بهبود امراض بهره جست‌ه‌اند (۲).

در فرهنگ ما نیز از قدیم الایام مصرف عسل در رژیم غذایی و یا کاربرد آن در رژیم درمانی از جایگاه خاصی برخوردار بوده است (۳). کیفیت عسل بر حسب این که زنبور از کدام گل و یا ماده غذایی استفاده نماید، متفاوت و در نتیجه خاصیت درمانی آن نیز متفاوت خواهد بود. همچنین می‌توان طعم انواع میوه‌ها و سبزی‌ها را با اختلاط آب یا عصاره آنها با شربت شکر به زنبورها داد. در این خصوص علاوه بر آنکه عسل تولیدی دارای کیفیت بهتری خواهد بود، برای خود زنبورها نیز مفیدتر است زیرا زنبورها قبل از آنکه ترکیبات جذبی را به عسل تبدیل کنند وارد بدن خود نموده و نیازهای غذایی خود را برطرف می‌سازند. بسته به منطقه- ای که عسل تولید می‌شود و همچنین نوع تغذیه زنبور، عسل‌های تولیدی دارای خاصیت آنتی اکسیدانی متفاوتی هستند (۴).

به هر اتم یا مولکولی که در اربیتال اتمی یا مولکولی خود یک یا چند الکترون غیرپیوندی داشته باشد، رادیکال آزاد می

گویند. این ترکیبات معمولاً ناپایدار، با انرژی بالا و کاملاً واکنش پذیر می‌باشند که به علت ایجاد آسیب اکسیداتیو در لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک منجر به ایجاد بیماری‌های مختلفی در انسان می‌شوند (۵).

آنتی اکسیدان‌ها، موادی هستند که قادرند با آثار ناشی از فرآیند فیزیولوژیک اکسیداسیون در بافت‌ها مقابله کنند. شواهد بسیار زیادی وجود دارد که اثرات سوء تغذیه‌ای آنتی اکسیدان-های ساختگی اضافه شده به مواد غذایی مانند بوتیل هیدروکسی آنیزول، بوتیل هیدروکسی تولوئن و ترت بتا هیدروکسی کینون را تأیید می‌کنند. علاوه بر این خطر آسیب کبدی و ایجاد سرطان در حیوانات آزمایشگاهی از معایب استفاده از آنتی اکسیدانهای ساختگی است (۶).

بنابراین نیاز به آنتی اکسیدان‌های قوی با سمیت کمتر و اثر بخشی بیشتر یک ضرورت اجتناب ناپذیر است. برخی تحقیقات وجود مواد آنتی اکسیدان موجود در عسل را اثبات نموده‌اند (۷،۸) که از جمله می‌توان فعالیت آنتی اکسیدانی قابل توجهی از جمله گلوکز اکسیداز، کاتالاز، آسکوربیک اسید، فنولیک اسیدها، فلاونوئیدها، آمینواسیدها و پروتئین‌ها را نام برد. به نظر می‌رسد مهمترین آنتی اکسیدان موجود در عسل فنول‌ها باشند (۹-۱۱).

شمار سوش‌های میکروبی مقام به آنتی بیوتیک‌ها هر روز بیشتر می‌شوند، لذا نیاز به مواد ضد باکتری جدید و کم ضرر هر روز بیشتر نمایان می‌گردد. از این رو، بررسی اثرات ضد میکروبی مواد طبیعی می‌تواند راه را برای بدست آوردن آنتی بیوتیک‌های جدید هموار سازد (۱۲). در گزارشات متعددی توانایی عسل در ممانعت از رشد میکرو ارگانیسم‌ها حتی در مواردی که داروهای آنتی باکتریایی رایج مؤثر نبوده‌اند بیان گردیده است (۱۳،۱۴).

همچنین ریشه شیرین بیان خشک (تولیدی همان مزرعه در سال گذشته) با آسیاب پودر گردیده و مقدار ۲۵۰ گرم پودر ریشه در ۲۰ لیتر آب جوشانیده شد و پس از عبور از صافی و به مقدار لازم در دسترس زنبورها (درون کندوها) قرار گرفت که این عسل خاص، با نام عسل شیرین بیان در متن آورده شده است.

تیمار سوم ۲۰ عدد کندو در چند نقطه مختلف طبیعت (به عنوان نمونه‌ای از عسل کل منطقه) جهت استفاده از شهدگل‌های منطقه و بدون هیچ گونه تغذیه دستی صورت پذیرفت و از این عسل در متن، بنام عسل مرتعی نام برده شده است. نمونه عسل-های تولید شده هر تیمار پس از برداشت با هم ترکیب و یک نمونه از هر کدام در ظروف دربسته جهت انجام آزمایشات ضد میکروبی و آنتی اکسیدانی به آزمایشگاه منتقل گردید.

فعالیت ضد میکروبی سه نوع عسل سیب و شیرین بیان و مرتعی بر روی باکتری‌های استاندارد گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC: 25923) و لیستریا مونو سایتوژنز (ATCC: 1298) و باکتری‌های گرم منفی سودوموناس آئروجینوزا (ATCC: 27853) E. Coli (ATCC: 25922) و همچنین مخمر کاندیدا البیکنس ایزوله شده کلینیکی اثر داده شد. همه باکتری‌ها از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند.

در این مطالعه از روش انتشار از چاهک Agar well diffusion assay استفاده گردید (۱۷). به این صورت که ابتدا محیط مولر هینتون آگار (مرک آلمان) طبق دستور العمل در پلیت‌های ۸ سانتی متری آماده و پس از بسته شدن محیط با ته پیپت پاستور استریل ۴ چاهک در هر پلیت ایجاد و از سوسپانسیون باکتری معادل ۰/۵ مک فارلند به روش سفراهی از هر باکتری روی پلیت کشت گردید. مقداری محیط آگار مولر هینتون ذوب شده به ته چاهک ریخته و فرصت داده شد تا ببنند سپس ۸۰ میکرو لیتر از هر نمونه عسل درون هر

ارزیابی‌های آزمایشگاهی نیز نشان دهنده آن است که طیف وسیعی از میکروارگانیسم‌های پاتوژن مؤثر در عفونت زخم‌ها توسط عسل مهار می‌شوند (۱۵).

علل فعالیت ضد باکتریایی عسل عبارتند از:

- ۱- اسمولالیت: عسل یک محلول اشباع یا فوق اشباع از قندها است که معمولا فقط بین ۱۵ تا ۲۱ درصد وزنی آن را آب تشکیل می‌دهد.
- ۲- اسیدیته: pH عسل بین مقادیر ۳/۲ تا ۴/۵ متغیر است که برای بسیاری از پاتوژن‌های حیوانی بازدارنده است.
- ۳- پراکسید هیدروژن: آنزیمی به نام گلوکز اکسیداز از غدد تحت حلقی زنبور وارد شهد می‌شود که با اثر بر گلوکز منجر به تولید گلوکوروونیک اسید و پراکسید هیدروژن می‌شود.
- ۴- سایر فاکتورها از قبیل فلاوونوئیدها، فنلیک اسیدها، لیزوزیم، اجزای ضد باکتری فرار و ... (۱۶).

هدف از انجام این تحقیق ارزیابی خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی عسل با تغذیه هدفمند زنبورها با آب سیب و جوشانده گل و ریشه شیرین بیان است که در نهایت بتوان بین این دو خاصیت در محصول تولیدی با عسل مرتعی مقایسه‌ای انجام گیرد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش ۳ نوع تغذیه مختلف برای زنبورها در نظر گرفته شد، بدین صورت که برای تیمار اول تعداد ۲۰ کندو در مزرعه قرار داده شد. در طی دو ماه (مرداد و شهریور) از باغ سیب ارگانیک، سیب برداشت و بوسیله دستگاه آبمیوه‌گیر صنعتی میوه‌ها آبگیری شده و آب سیب به مقدار لازم در دسترس زنبورها (درون کندوها) قرار گرفت و این عسل، عسل سیب نامیده شد. در تیمار دوم هم از تغذیه دستی و هم طبیعی استفاده گردید بدین صورت که تعداد ۲۰ کندو در مزرعه شیرین بیان قرار داده شد.

چاهک ریخته سپس پلیت طوری آماده شد که حاوی چهار چاهک و هر چاهک حاوی یک نوع عسل باشد.

به عنوان کنترل منفی از مخلوط آب و شکر و برای مقایسه فعالیت ضد میکروبی عسل‌ها از چند دیسک آنتی بیوتیک رایج مثل CIP ۵ میکروگرمی برای لیستریا مونوسایتوزنز و E. Coli، PG ۱۰ میکروگرمی برای استافیلوکوکوس اورئوس و جنتامایسین ۳۰ میکروگرمی در مقابل سودوموناس آئروجینوزا استفاده گردید. این دیسک‌های آنتی بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن بر روی باکتری‌ها اثر داده شدند. پلیت‌ها به مدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۵ درجه سانتیگراد قرار داده شده و سپس قطر هاله عدم رشد (IZ) Inhibition Zone اطراف چاهک‌ها با خط کش اندازه‌گیری شد. هر آزمایش دو بار تکرار و میانگین نتایج ثبت گردید.

خاصیت آنتی اکسیدانی

برای بررسی خاصیت آنتی اکسیدانی عسل از چند روش مختلف استفاده شد. برای این منظور ابتدا محلول مشخصی از هر نمونه عسل در آب مقطر آماده شد.

اندازه‌گیری فنل تام

مقدار فنل تام در نمونه‌های عسل با اندکی تغییر در روش فولین سیکالتو اندازه‌گیری گردید (۱۸). در این روش، در لوله آزمایش به مقدار ۰/۱ میلی لیتر از هر عسل (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) با محلول اتانولی استاندارد اسید گالیک (غلظت ۳۰۰-۲۵ میکروگرم) ۰/۵ میلی لیتر معرف فولین-سیوکالتو (رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۱ به ۱۰) و ۰/۴ میلی لیتر سدیم کربنات ۷/۵٪ اضافه و مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه نگهداری در دمای محیط آزمایشگاه، جذب نوری آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (فارماسیا مدل ال کا بی نوو اسپکت II ساخت انگلستان) در طول موج ۷۶۵ نانومتر قرائت گردید. مقادیر

فنل تام در نمونه‌های عسل با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میلی گرم اسید گالیک در گرم عسل بیان گردید.

از آنجا که امروزه روش‌های متعددی برای ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. بی شک استفاده از یک روش به تنهایی نمی‌تواند تمامی مکانیسم‌های آنتی اکسیدانی را بیان نماید. به همین دلیل در این روش از ۳ روش سنجش فعالیت آنتی اکسیدانی دیگر استفاده گردید.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان بوسیله دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)

فعالیت آنتی اکسیدانی تام نمونه‌های عسل توسط روش ون گادو و همکاران ارزیابی شد (۱۹). در این روش، ۲/۴ میلی گرم پودر دی فنیل پیکریل هیدرازیل در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول خالص حل گردید. در لوله آزمایش به ۲۵ میکرولیتر نمونه از هر عسل یا محلول استاندارد ترولکس، ۱ میلی لیتر محلول الکلی دی فنیل پیکریل هیدرازیل اضافه و مخلوط گردید.

همچنین از محلول دی فنیل پیکریل هیدرازیل به عنوان کنترل استفاده شد. بعد از ۱۰ دقیقه قرار دادن در تاریکی و دمای محیط آزمایشگاه، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت و برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرومول استفاده گردید. سپس درصد مهار رادیکال دی فنیل پیکریل هیدرازیل توسط نمونه‌های عسل محاسبه شد.

ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدان بوسیله یا توان آنتی اکسیدانی معادل ترولکس (ABTS)

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه‌ها توسط روش ری و همکاران ارزیابی گردید (۲۰). به ۰/۰۲ میلی لیتر از نمونه عسل (با غلظت ۱ میلی گرم بر میلی لیتر) یا محلول اتانولی استاندارد ترولکس، ۲ میلی لیتر محلول اتانولی ABTS+ اضافه و مخلوط شد.

جدول ۱ مشاهده می‌شود قطر هاله عدم رشد عسل تولیدی با عصاره شیرین بیان و سیب بر روی همه باکتری‌ها و مخمر کاندیدا آزمایش شده در مقایسه با عسل مرتعی، بیشتر بود. عسل شیرین بیان بیشترین فعالیت ضد میکروبی را نسبت به باکتری‌ها و مخمر آزمایش شده در این بررسی بجز در مورد *E. Coli* از خود نشان داد.

در این خصوص بیشترین فعالیت ضد میکروبی را در مورد باکتری‌های سودوموناس و لیستریا و کمترین فعالیت را علیه باکتری *E. Coli* نشان داده است. فعالیت ضد میکروبی عسل شیرین بیان در مقایسه با آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده، بجز سیپروفلوکساسین، بیشتر بوده است. عسل تولیدی سیب نیز از قدرت ضد میکروبی خوبی نسبت به عسل مرتعی علیه باکتری‌های سودوموناس، لیستریا و استافیلوکوکوس بر خوردار بود و گاه با آنتی بیوتیک‌های مورد استفاده در مورد سودوموناس آئروجینوزا برابری می‌کرد.

جدول ۱. قطر هاله عدم رشد باکتری‌ها در مقابل عسل و در مقایسه با برخی آنتی

بیوتیک‌ها (به میلی متر)

استافیلوکوکوس اورئوس	لیستریا منوسایتوزنز	<i>E. Coli</i>	سودوموناس	کاندیدا آلبیکنس
۲۰±	۲۴±	۱۳±	۲۴± /	۲۰±
شیرین بیان				
۱۷±	۱۸±	۱۲± /	۱۹± /	۱۳±
عسل سیب				
۱۱±	۱۲±	۹± /	۱۶±	۱۰±
عسل مرتعی				
-	۲۱± /	۲۹± /	-	-
CIP				
۹± /	-	-	-	-
PG				
-	-	-	۲۰± /	-
جنتامایسین				
۰	۰	۰	۰	۰
آب و شکر				

*برای مخمر کاندیدا از آنتی بیوتیک استفاده نشد.

همه عسل‌های آزمایش شده اعم از شیرین بیان، سیب و مرتعی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به آنتی بیوتیک پنی سیلین قطر هاله عدم رشد بیشتری نشان دادند. بیشترین فعالیت ضد میکروبی عسل‌های مورد استفاده در این

همچنین محلول ABTS+ به عنوان نمونه کنترل استفاده گردید. بعد از ۶ دقیقه قرار دادن نمونه‌ها در دمای محیط، ابتدا دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۳۴ نانومتر توسط اتانول خالص صفر گردید و سپس جذب نمونه‌ها قرائت شد. برای رسم منحنی استاندارد از محلول ترولکس با غلظت ۱۰۰-۱۰۰۰ میکرومول استفاده شد. سپس درصد مهار یا درصد فعالیت خنثی سازی رادیکالی عسلها محاسبه شد.

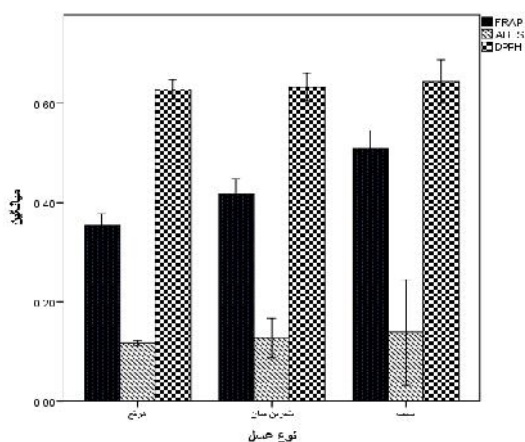
اندازه گیری خواص آنتی اکسیدانی از طریق آزمون توان آنتی اکسیدانی احیاء یون فریک (FRAP)

برای اندازه گیری توانایی احیاء کنندگی نمونه‌های عسل از روش بنزی و استرین با اندکی تغییر استفاده شد (۲۱). محلول کار FRAP بوسیله مخلوط کردن ۱۰ میلی لیتر بافر استات ۳۰۰ میلی مول (pH=۳/۶)، ۱ میلی لیتر تری-۲-پیریدیل-S-تریازین (TPTZ) ۱۰ میلی مول (حل شده در اسید کلریدریک ۴۰ میلی مول) و ۱ میلی لیتر کلرید آهن ۲۰ میلی مول روزانه تهیه شد. در لوله آزمایش به ۰/۰۲ میلی لیتر از هر عسل (با غلظت ۱ میلی گرم / میلی لیتر) با محلول استاندارد آبی سولفات آهن (غلظت ۰/۳۷-۰/۱۸۵ میکرومول)، ۱ میلی لیتر از محلول کاری FRAP اضافه و مخلوط گردید. مخلوط فوق ۵ دقیقه در دمای محیط قرار داده شد و سپس جذب نوری نمونه‌ها قرائت شد. فعالیت احیا کنندگی نمونه‌های عسل با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکرومول آهن در گرم عصاره محاسبه شد و یافته‌ها با استفاده از تست آماری کروسکال والیس آنالیز شدند.

یافته‌ها

فعالیت ضد میکروبی

برای ارزیابی فعالیت ضد میکروبی از روش Agar well diffusion assay استفاده شد (شکل ۱). همانطور که در



شکل ۱. میانگین فعالیت و انحراف معیار آنتی اکسیدانی و میزان فنل تام ۳ نمونه عسل

در دیگر روش ارزیابی خواص آنتی اکسیدانی نمونه‌ها (احیاء آهن) بین موارد آزمایش اختلاف معنی‌دار آماری وجود داشت ($P=0/007$) (جدول ۲). در این آزمایش عسل تولیدی با عصاره سیب با ۰/۵ میکرومول آهن در گرم از دو نمونه دیگر بیشتر بود (شکل ۱).

طبق نتایج آزمایش در روش توان آنتی اکسیدانی معادل ترولکس نیز بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (جدول ۲). همچنین مقایسه میانگین نمونه‌ها نشان داد که عسل تولیدی با عصاره سیب و مرتعی به ترتیب با ۰/۱۳ و ۰/۱۱ میکرومول ترولکس در گرم بیشترین و کمترین مقادیر میانگین را دارا بودند (شکل ۱).

جدول ۲. میانگین فعالیت آنتی اکسیدانی و میزان فنل تام ۳ نمونه عسل

آزمایشات	سیب	شیرین بیان	مرتی
آ فنل تام	۲۹۰ ± ۱۴/۴۷	۲۶۹ ± ۹/۳۸	۱۷۴ ± ۵/۰۴
†† معادل ترولکس (ABT)	۰/۱۳ ± ۰/۰۶۶	۰/۱۲ ± ۰/۰۲۵	۰/۱۱ ± ۰/۰۰۲
*توان آنتی اکسیدانی احیاء آهن (FRAT)	۰/۵ ± ۰/۰۲	۰/۴۱ ± ۰/۰۱۹	۰/۳۵ ± ۰/۰۲
♦♦ دی فنیل پیکریل هیدرازیل (DPPH)	۰/۶۴ ± ۰/۰۳	۰/۶۳ ± ۰/۰۱۷	۰/۶۲ ± ۰/۰۱

† میلی گرم اسید گالیک در گرم
♦ میکرومول آهن در گرم
†† میکرومول ترولکس در گرم
♦♦ میکرومول ترولکس در گرم

آزمون علیه باکتری‌های لیستریا و سودوموناس به ترتیب مربوط به عسل شیرین بیان، سیب و سپس عسل مرتعی دیده شد. هر چند در مورد شیرین بیان و سیب این فعالیت هم اندازه و گاه از آنتی بیوتیک شاهد بیشتر بود ولی عسل مرتعی نیز فعالیت ضد میکروبی خوبی از خود نشان داد تا جایی که در مورد سودوموناس آئروجینوزا هاله عدم رشدی به قطر ۱۶ mm را داشت.

بیشترین فعالیت ضد میکروبی در مورد مخمر کاندیدا آلبیکنس را عسل شیرین بیان سپس سیب و در آخر عسل مرتعی داشت. قطر هاله عدم رشد عسل شیرین بیان علیه کاندیدا به اندازه قطر هاله عدم رشد آن علیه استافیلوکوکوس اورئوس بود. در مجموع در این مطالعه شیرین بیان با توجه به نتایج آورده شده در جدول ۱ از فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به سایر عسلها برخوردار بود.

فعالیت آنتی اکسیدانی

بر اساس نتایج آزمایش (جدول ۲) از نظر میزان کل فنل‌ها بین نمونه‌های مورد آزمایش اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود داشت. در این خصوص عسل تولیدی با عصاره سیب و عسل مرتعی به ترتیب با ۲۹۰ و ۱۷۴ میلی گرم اسید گالیک بیشترین و کمترین مقادیر را دارا بودند (شکل ۱).

در ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی با روش دی فنیل پیکریل هیدرازیل، بین نمونه‌ها اختلاف معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۲). با این وجود عسل تولیدی با عصاره سیب با ۰/۶۴ و عسل مرتعی ۰/۶۲ با میکرومول ترولکس در گرم، به ترتیب بیشترین و کمترین مقادیر میانگین را دارا بودند (شکل ۱).

بحث و نتیجه گیری

همانطور که می دانیم مقاومت روز افزون باکتری ها به آنتی بیوتیک ها، بشر را ناگزیر به استفاده از مواد ضد میکروبی جدید و کشف موادی می سازد که نه تنها عوارض جانبی کمتری داشته باشند، بلکه این موجودات هوشمند نسبت به آنها مقاومت ایجاد نکرده باشد. شاید با کشف چنین موادی بتوان از ترس برگشت به دوران قبل از آنتی بیوتیک ها کاست. دستکاری آنتی بیوتیک های حاضر و یا مواد طبیعی موجود در پیرامون ما که دارای آثار ضد میکروبی هستند همچون داروهای گیاهی و ترکیباتی همچون عسل، شاید راهکاری برای مشکل موجود باشد.

در این مطالعه با تغذیه هدفمند زنبورها با موادی که بتوان آثار ضد میکروبی و آثار مفید دیگر از جمله آنتی اکسیدانی در محصول تولیدی یا عسل نمایان باشد، بررسی را شروع کرده سپس به بررسی آثار ضد میکروبی و ضد اکسیدانی عسل پرداخته شد. شیرین بیان با توجه به نتایج آورده شده در جدول ۱ در قسمت نتایج از فعالیت ضد میکروبی بیشتری نسبت به سایرین برخوردار بود. این نتیجه به احتمال زیاد مربوط به آثار ضد میکروبی گیاه شیرین بیان است که قبلاً به اثبات رسیده است (۲۲).

سودوموناس آئروجینوزا عامل مهم عفونت های بیمارستانی بوده و از عفونت های سوختگی نیز جدا می شود. استافیلوکوکوس اورئوس عامل عفونت های پوستی همچون کورک، زرد زخم و انواع آبسه ها، عفونت های درگیرکننده اندام های مختلف چون آرتريت، استئومیلیت و اندوکاردیت و مسمومیت های مختلفی همچون مسمومیت غذایی، شوک سپتیک و سندرم شوک سمی است (۲۳، ۲۴).

مخمر کاندیدا آلبیکنس عامل واژینیت برگشت پذیر کاندیدیایی بوده و E. Coli عامل اسهال های مسافرتی و

اسهال در کودکان است. لیستریا مونوسایتوزنز عامل مهم مننژیت های باکتریایی بوده و عسل های تولید شده طبق نتایج آمده در جدول ۱ روی همه باکتری های ذکر شده اثر مهاری خوبی از خود نشان داده اند.

برخی پژوهشگران معتقدند فعالیت ضد میکروبی عسل بیشتر در اثر خواص فیزیکی آن است (۲۵). در مقابل عده ای دیگر از محققین معتقدند که پتانسیل ضد میکروبی عسل وابسته به پراکسید هیدروژن موجود در آن است که توسط فعالیت آنزیمی ترشحات بزاقی زنبور به عسل اضافه می گردد (۲۶).

در تحقیقی پتانسیل ضد میکروبی عسل های تجاری تولید شده در چند منطقه مختلف شهرستان ارومیه بر روی محیط کشت باکتری های استافیلوکوکوس اورئوس، اشیریشیا کلی و سودوموناس آئروژینوزا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که برخی از نمونه ها از قدرت ضد میکروبی بالاتری برخوردار بودند که علت آن به مواد فیتوشیمیایی خاص موجود در فلور گیاهی منطقه پرورش زنبور بستگی داشت (۳).

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد که ترکیبات فنلی می توانند مسئول فعالیت آنتی اکسیدانی عسل تولیدی با عصاره سیب باشند. در پژوهشی که با این تحقیق مطابقت دارد رابطه مستقیم بین خاصیت آنتی اکسیدانی و میزان ترکیبات فنلی و آنتوسیانینی در بلوبری (نوعی میوه که در نواحی اطراف دریای سیاه می روید) اثبات گردید (۲۷).

ترکیبات فنلی به دلیل خواص آنتی اکسیدانی از جمله ترکیبات مهم محسوب می شوند که نقش مهمی در حذف رادیکال های آزاد و جلوگیری از تبدیل هیدروپراکسیدها به رادیکال های آزاد را دارند (۲۸).

برخی از گزارشات بیانگر ارتباط مستقیم بین آزمایش فنل تام به روش معرف فولین-سیوکالتو با آزمایشات فعالیت ضد اکسیدان دی فنیل پیکریل هیدرازیل، فعالیت آنتی

اکسیدانی معادل ترولکس و پتانسیل آنتی اکسیدانی احیاء آهن است (۲۹). در مطالعات فراوانی نیز وجود ترکیبات فنلی میوه و آب سیب و بالا بودن مقدار آن نسبت به برخی از میوه‌های رایج به اثبات رسیده است (۳۰، ۳۱).

ترکیبات فنلی سیب در پیشگیری از بسیاری از بیماریهای رایج مانند برخی از سرطان‌ها و بیماری‌های قلبی عروقی موثر می‌باشند (۳۲، ۳۳).

همانطوری که در نتایج آزمایش آمده است عسل سیب دارای بیشترین مقدار فنل تام نسبت به دو نمونه دیگر می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که علت بالا بودن مقدار فنل تام و فعالیت آنتی اکسیدانی عسل سیب به دلیل وجود ترکیبات موجود در آب سیب مورد استفاده زنبورها باشد. همچنین با توجه به آنالیز داده‌ها با آزمون آماری کروسکال والیس نشان داده شد که از نظر FRAP بین سه عسل مورد بررسی تفاوت معنی داری وجود داشت ($P=0/007$).

در پایان، با توجه به ظهور سوش‌های مقاوم به اکثر آنتی بیوتیک‌ها از یک سو و عوارض جانبی آنتی بیوتیک‌ها از سوی دیگر و همچنین وجود خواص ضد میکروبی عسل و نداشتن عوارض جانبی، ترکیب عسل و عصاره گیاهانی که دارای فعالیت آنتی باکتریال و آنتی اکسیدان به طور طبیعی هستند (تغذیه زنبور با این مواد)، می‌تواند در این مورد خاص راهگشا باشد و تولید این نوع عسل با استفاده از گیاهان دیگر با خواص درمانی متفاوت پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از همکاری‌های خانم‌ها سوسن چراغی و مریم قاسمی و همچنین سرپرست مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی برای فراهم نمودن امکانات انجام مطالعه حاضر نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Aarabi A, Mirhojjati H, Naieri H, Nouri M, Shariaty MA, Zamany Moghadam M. Survey of Physicochemical Properties of Produced Honey in Isfahan province of Iran in 2012. *Int J Farm & Alli Sci.* 2012; 2(8): 183-187.
2. Zumla A, Lulat A. Honey - a remedy rediscovered. *Journal of the Royal Society of the medicine.* 1989; 82: 384-385.
3. Tajik H, Shokouhi S, Elahi S. The evaluate potential antimicrobial commercial honey production in Urmia city. *Iran J Food Sci Tech* 2006; 4(2):39-45. (In Persian)
4. Hashemi M. Honey therapy (nutritional properties and therapeutic drug). 2012. Farhang Publication. Fifth Edition. (In Persian)
5. Salahvarzian A, Aliniaefard S, Rasoulia B, Namdari M, Mardani M. *Miracle of Nature.* Shaporkhast Publication. 2011; 2(1): 39-45. (In Persian)
6. Mirzaei A, Mohammadi J, Mirzaei N, Mirzaei M. The antioxidant properties and total Phenolic some Medicine plants. *JFUMS.* 2011; 1(3):160-167. (In Persian)
7. Gorjianovic S, Alvarez-Suarez J, Novakovic M, Pastor F, Pezo L, Battino M, Suznjevic D. Comparative analysis of antioxidant activity of honey of different floral sources using recently developed polarographic and various spectrophotometric assays. *Journal of Food Composition and Analysis* 30 2013; 30(1): 13-18.
8. Beretta G, Granta P, Ferrero M, Orioli M, Facino RM. Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta.* 2005; 533(2): 185-191.
9. Zuhair HS, Mohd YK, Makpol S, Mohd YA. Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Molecules.* 2011; 16: 6378-6395.
10. Aljadi AM, Kamaruddin MY. Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honey. *Food Chemistry.* 2004; 85(4): 513-518.
11. Blasa M, Candiracci M, Accorsi A, Piacwntini M, Albertini L M, Piatti E. Raw Millefiori honey is packed full of antioxidants. *Food Chemistry.* 2006; 97(2): 217-222.
12. Delfan B, Mshkath Sadat M, Talei GR. Antibacterial effects of extracts of sumac Lori on several positive and negative bacteria. *Yafteh.* 2004; 5(18): 19-23. (In Persian)
13. Molan PC, The Antibacterial Activity of Honey. *The Nature Of The Antibacterial Activity.* *Bee World.* 1992; 73: 5-28.
14. Al Somal N, Coley KE, Molan PC, Hancock BM. Susceptibility of *Helicobacter pylori* to the Antibacterial Activity of Manuka Honey. *J Royal Soc Med.* 1994; 87: 9-12.
15. Cooper RA. The inhibition of bacteria isolated from chronic venous leg ulcers by honey. *Journal of Medical Microbiology.* 1998; 47: 1140-1146.
16. Myrsalhan A, Tahmasebi Gh, Mir Afshar M, Razaghi M, Abrishami A. Antibacterial activity of honey in some areas In vitro conditions. *Medical Journal*

- of Tabriz University of Medical Sciences. 2008; 28(3): 119-123. (In Persian)
17. Queiroz Pimentel RB, Alves da Costa C, Patricia Albuquerque M, Junior S. Antimicrobial activity and rutin identification of honey produced by the stingless bee *Melipona compressipes manausensis* and commercial honey. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2013; 13(151): 1-13.
 18. McDonald S, Prenzler PD, Autolovich M, Robards K. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*. 2001; 73:73-84.
 19. Von Gadow A, Joubert E, Hansmann CF. Comparison of antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of Rooibos tea (*Aspalathon linearis*), *α*-tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1997; 45: 632–638.
 20. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology*. 1999;26:1231-1237.
 21. Benzie IF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*. 1996; 239:70-76.
 22. Nitalikar M, Munde K, Dhore B, Shikalgar S, Studies of Antibacterial Activities of Glycyrrhiza glabra Root Extract. *International Journal of Pharm Tech Research*. 2010; 2(1): 899-901.
 23. Konno M. Nosocomial infections caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Japan. *J Infect Chemother*. 1995; 1: 30-39.
 24. Warsa CW, Okubo T, Okamoto R. Antimicrobial susceptibilities and phage typing of *Staphylococcus aureus* clinical isolates in Indonesia. *J Infect Chemother*. 1996; (2): 29-33.
 25. Kaufman T, Eichenlaub EH, Angel MF. Topical acidification promotes healing of experimental partial thickness skin burns: A randomized double-blind preliminary study. *Burns*. 1985; 12: 84-90.
 26. Hyslop PA, Hinshaw DE, Scraufstatter IU. Hydrogen peroxide as a potent bacteriostatic antibiotic: Implications for host defense. *Free Radic Biol Med*. 1995; 19(11): 31-37.
 27. Koca I, Karadeniz B. Antioxidant properties of blackberry and blueberry fruits grown in the Black Sea Region of Turkey *Sci Hort*. 2009; 121: 447 - 450.
 28. Jimoh FO, Adedapo AA, Aliero AA, Afolayan J. Polyphenolic Contents and Biological Activities of *Rumex ecklonianus*. *Pharm Biol*. 2008; 46: 333 - 340.
 29. Stratil P, Klejdus B, Kuban V. Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables-evaluation of spectrophotometric methods. *J Agric Food Chem*. 2006; 54:607-616.
 30. Scalzo J, Politi AI, Pellegrini N, Mezzetti Br, Battino M. Plant genotype affect total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*. 2005; 21: 207-213.
 31. Takos AM, Ubi BE, Robinson SP, Walker AR. Condensed tannin biosynthesis gene are regulate separately from other

- flavonoid biosynthesis genes in apple fruit skin. *Plant Science*. 2006; 170: 487-499.
32. Hamauzu Y, Yasui H, Inno T, Kume C, Omanyuda M. Phenolic profile, antioxidant property, and anti-influenza viral activity of Chinese quince (*Pseudocydonia sinensis* Schneid.), quince (*Cydonia oblonga* Mill.), and apple (*Malus domestica* Mill.) fruits. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*. 2005; 53(4): 928-934.
33. Boyer J, Liu RH. Apple phytochemicals and their health benefits. *Nutr J*. 2004; 3: 1-15.