

(مقاله پژوهشی)

فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره آبی و بافری ژله رویال تازه و خشک شده به روش انجمادی و اثرات ضد باکتریایی آنها بر باکتری های دهانی و روده ای انسان

مرسده مالکی^۱، محمد گلی^{۲*}، الهام خسروی^۳

۱- کارشناس ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۲- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

۳- مربی، گروه علوم و صنایع غذایی، واحد اصفهان (خوراسگان)، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۸/۲۱

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۰

چکیده

ژله رویال از دیرباز دارای نقش درمانی برای بیماری ها به ویژه عفونت ها بوده است. در این مطالعه میزان فعالیت آنتی اکسیدانی و اثر ضد میکروبی ژله رویال بر باکتری های دهانی شامل: استرپتوکوک (موتانس، اپیدرمیدیس)، استافیلوکوک اورئوس و باکتری های معده - روده ای (استرپتوکوک سالیواریوس، اشیریشیا کلی) مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا تأثیر دو حلال آبی و بافر فسفات بر میزان استحصال ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره استخراج شده از ۲ نمونه ژله رویال (تازه ایرانی، خشک تصعیدی ایرانی) بررسی شد. خواص ضد میکروبی عصاره ها در دو حلال آبی و بافر فسفات در غلظت های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰٪ به روش میکروبراث دیلوشن (شاخص حداقل غلظت بازدارندگی رشد) و انتشار دیسک (قطر هاله عدم رشد) اندازه گیری شد. نتایج نشان داد، بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به ژله رویال خشک تصعیدی ایرانی با ۱۴۶/۵۶ میکروگرم گالیک اسید در میلی لیتر ژله رویال بود. در ارتباط با خاصیت آنتی اکسیدانی نمونه ها، بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به ژله رویال خشک تصعیدی با ۷۳/۴٪ و کمترین مربوط به ژله رویال تازه ایرانی با ۶/۳٪ بود. در بررسی خاصیت ضد میکروبی نمونه ها، تأثیر پذیرترین باکتری نسبت به غلظت های مختلف آبی و بافری ژله رویال، استرپتوکوک موتانس و مقاوم ترین، اشیریشیا کلی مشاهده شد. در ارتباط با غلظت های بافری نمونه ها، نتایج مشابهی با غلظت های آبی مشاهده گردید. در مورد میزان حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)، بیشترین درصد برای اشیریشیا کلی در عصاره بافری گزارش شد. به این ترتیب می توان ژله رویال را به عنوان منبعی از آنتی اکسیدان طبیعی معرفی نمود که ناشی از حضور ترکیبات فنولی موجود در این ماده است.

واژه های کلیدی: ژله رویال، خواص آنتی اکسیدانی - آنتی باکتریایی، ترکیبات فنولی، حداقل غلظت بازدارندگی، قطر هاله عدم

رشد

۱- مقدمه

ژله رویال اصلی ترین غذا در کلنی زنبورهای عسل می باشد که توسط غدد زیر حلقی و غدد شیری در زنبورهای کارگر، در دوره زمانی ۵ تا ۱۵ روزه ای آنها تولید می شود. این ماده نقش بسیار مهمی در رشد و تکامل ملکه زنبور عسل ایفا می کند زیرا در طی سه روز اول عمر، همه لاروها بصورت غیر انتخابی با این ماده تغذیه می شوند اما پس از آن، تنها لارو ملکه برای تمام مدت عمر خود از ژله رویال تغذیه خواهد نمود (۲۹). ترکیبات اصلی ژله رویال زنبور عسل در بین ژله بدست آمده در مناطق جغرافیای مختلف، اندکی متغیر است اما بطور عمومی می تواند حاوی ۶۵-۷۰٪ آب، ۱۲-۱۷٪ پروتئین کل، ۳-۴٪ چربی کل و ۱۰-۱۲٪ قند کل باشد. ژله رویال هم چنین حاوی انواع ویتامین و پلی پپتیدهای سودمند و البته اسیدهای آمینه آزاد است (۲۱). وجود ترکیبات موثره متنوع در ژله رویال دلیل اصلی اهمیت زیستی بسیار بالای آن برای بقاء زنبورهای عسل، تغذیه لاروها و مقابله با آسیب های میکروبی و بیوشیمیایی است. لاور زنبور عسل ممکن است توسط انواع مختلفی از بیماری های باکتریایی، قارچی یا پرتوزوایی مورد تهدید و آسیب جدی قرار گیرند. خطرناکترین و رایج ترین بیماری باکتریایی در بین لاروهای زنبور عسل به بیماری لوک آمریکایی (AFB) معروف است که توسط اسپور باکتری (پائنی باسیلوس لاروائه لاروائه) ایجاد می شود (۱۲). زنبورهای عسل ترکیبات پروتئینی بسیار موثر و قدرتمندی را برای مقابله با آلودگی میکروبی در انواع محصولات تولیدی در کندوی زنبور عسل ترشح می کنند. این ترکیبات در واقع بخش جدایی ناپذیر از مواد تشکیل دهنده محصولات زنبور هستند که در مقادیر زیاد و بطور انتخابی در عسل و ژله رویال یافت می شوند (۱۰). گروه خاصی از ترکیبات دفاعی که در رشد و نمو زنبور عسل بسیار مهم

می باشد، انواعی از پروتئین ها، پپتید ها و ترکیباتی با وزن مولکولی اندک هستند که در ژله رویال ترشح می شوند. بخش عمده ای از خانواده پروتئین های موجود در ژله رویال (در حدود ۹۰٪) دارای نقش تغذیه ای می باشند (۲۹). پروتئین های موجود در عصاره قلیایی و آبی ژله رویال دارای خواص آنتی اکسیدانی بسیار بالا با توانایی مهار رادیکال های آزاد هستند و فعالیت آنتی اکسیدانی با گذشت زمان کاهش می یابد (۲۳). اثر آنتی باکتریال ژله رویال بر ۶ باکتری در محیط کشت نشان داد که مواد محلول در اتر ژله رویال حاوی ماده ای باکتری کش به نام رویالین بوده که دارای فعالیت بالقوه آنتی باکتریال است (۴ و ۱۹). ژله رویال بکر بیشترین فعالیت آنتی باکتریایی را داشت (۲۷). بیماری های میکروبی دهان و دندان از انواع رایج آلودگی های باکتریایی می باشند. عوامل رادیکال آزاد اکسیژنی که به عنوان اکسیدکننده های قوی شناخته می شوند قادرند صدمات جدی به ساختار سلولی میکروبی وارد کنند. لذا با توجه به ویژگی های بسیار متنوع و در برخی موارد منحصر به فرد ژله رویال در مقابله با بیماری های میکروبی و عوامل آنتی اکسیدانی، و افزایش توجه جوامع علمی و صنعتی به این ماده در صنعت غذایی و به ویژه صنایع غذا- دارو، سبب شد در این پژوهش ابتدا میزان ترکیبات فنولی کل (بر اساس معادل اسید گالیک) و فعالیت آنتی اکسیدانی (درصد مهار رادیکال DPPH) و سپس برای اولین بار اثر آنتی میکروبی عصاره استخراج شده توسط آب و بافر فسفات (pH=7) دو نوع ژله رویال شامل، ژله رویال ایرانی تازه و ایرانی خشک شده به روش تصعیدی، بر چهار باکتری پاتوژنی گرم مثبت شامل استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس^۱، استرپتوکوکوس سالیواریوس^۲، استافیلوکوکوس اورئوس^۳، استرپتوکوکوس موتانس^۴ و یک باکتری گرم منفی

1- *Staphylococcus epidermidis*2- *Streptococcus salivarius*3- *Staphylococcus aureus*4- *Streptococcus mutans*

استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (PTCC 1436) و استرپتوکوکوس سالیواریوس (PTCC 1448) از مرکز کلکسیون میکروارگانسیم‌های صنعتی ایران دریافت شد.

۲-۱- اندازه‌گیری غلظت ژله‌ها

جهت انجام آزمایشات مورد استفاده در این مطالعه، درصد ماده خشک موجود در ژله رویال اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ژله رویال تازه را با ضخامت کم در پتری دیش ریخته و در سینی دستگاه خشک کن تصعیدی مارک دنا قرار داده شد. آبگیری تحت شرایط دمایی ۴۰- درجه سلیسیوس و میزان خلاء ۰/۰۰۱ میلی بار به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت (۱۸). درصد رطوبت نمونه با روش اندازه‌گیری تفاوت وزن نمونه قبل و بعد از خشک کردن تصعیدی تقسیم بر وزن نمونه قبل از خشک کردن تصعیدی ضربدر ۱۰۰ محاسبه گردید. برای محاسبه درصد ماده خشک نیز درصد رطوبت از ۱۰۰ کم شد (۱۸). میزان متوسط ماده خشک ژله‌های مورد استفاده حدود ۳۲ درصد بود. تمامی محلول‌های ساخته شده (آبی و بافری) بر اساس ماده خشک مواد اولیه تنظیم و تهیه گردید.

۲-۲- اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی نمونه‌های ژله رویال

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در ژله رویال به روش فولین- سیوکالتو (۷، ۲۶) مورد بررسی قرار گرفت. به طور خلاصه، ۲/۵ گرم از هر نمونه ژله رویال در ۲۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل و توسط کاغذ فیلتر واتمن ۴ فیلتر شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین- سیوکالتو ۰/۴ نرمال مخلوط گردید و به مدت ۵ دقیقه تکان داده شد پس از آن ۲ میلی‌لیتر سدیم کربنات ۰/۷ مولار به محلول اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۶۰ نانومتر در برابر نمونه شاهد قرائت گردید. برای تهیه نمونه شاهد به جای ۲/۵ گرم ژله رویال، ۲/۵ گرم متانول خالص برداشته شد و بقیه مراحل طبق

شامل اشیریشیا کلی^۱ به روش میکروبراث دیلوشن برای تعیین شاخص حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) و روش انتشار دیسک برای تعیین شاخص قطر هاله عدم رشد مورد بررسی قرار گرفت.

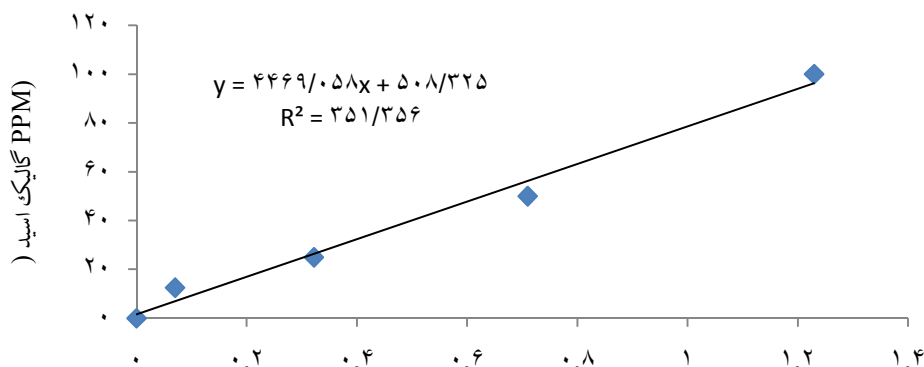
۲- مواد و روش‌ها

تعداد ۲ نمونه ژله رویال مورد مطالعه در این تحقیق در سال ۱۳۹۴ از زنبورستان مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان (ایرانی) تهیه گردید. ۲ نمونه به صورت تازه و پودر (خشک تصعیدی) مورد استفاده قرار گرفت. به منظور انجام آزمایشات مواد و دستگاه‌های ذیل مورد استفاده گردید: معرف فولین سیوکالتو ۰/۴ نرمال با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت سیگما، سدیم کربنات ۰/۷ مولار با خلوص ۹۹/۶٪ از شرکت مرک آلمان، اسید گالیک با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت سیگما، DPPH ۰/۰۶ میلی مولار با خلوص ۱۰۰٪ از شرکت سیگما، متانول با خلوص ۹۹/۹٪ از شرکت مرک آلمان، دستگاه اسپکتروفتومتر مدل 50 cray تایوان، ترازوی دیجیتال sartorius آلمان، دستگاه خشک کن تصعیدی مدل VACDR-1000 از شرکت وکیوم پمپ آسیا، محیط کشت مولر هیتون آگار^۲ برای تست آنتی بیوگرام از شرکت کیولب کانادا، محیط کشت مانیتول سالت آگار^۳ از شرکت کیولب کانادا (۴)، محیط کشت میتیس سالیواریوس آگار^۴ از شرکت کیولب کانادا (۱۱)، محیط کشت اتوزین متیلن بلو^۵ از شرکت کیولب کانادا (۱۵)، محیط کشت تربیتیک سوی براث^۶ از شرکت کیولب کانادا (۵). برای کشت سویه‌های باکتری گرم مثبت و گرم منفی استفاده شد. سویه‌های میکروبی مورد استفاده در این تحقیق شامل اشیریشیا کلی (PTCC 1338)، استافیلوکوکوس اورئوس (PTCC 1189)، استرپتوکوکوس موتانس (PTCC 1683)،

- 1-- *Escherichia coli*
- 2- Muller Hinton Agar
- 3- Mannitol Salt Agar
- 4- Mitis Salivarius Agar
- 5- Eosin Methylene Blue Agar
- 6- Tryptic Soy Broth (TSB)

روش بالا انجام گرفت. منحنی استاندارد محلول های اسید گالیک به روش پورمراد و همکاران، ۲۰۰۶ مطابق با شکل

(۱) رسم شد (۲۶).



شکل ۱- میزان دانسیته نوری به روش اسپکتروفتومتری بر مبنای غلظت گالیک اسید

مخلوط شد پس از آماده کردن نمونه ها در غلظت های محاسبه شده و هم چنین آماده کردن نمونه شاهد در غلظت های مشابه نمونه های مورد استفاده، تا حجم نهایی ۱ میلی لیتر به نمونه ها، محلول DPPH اضافه شد و پس از مدت زمان ثابت (بین ۱۰ تا ۳۰ دقیقه) برای تمام نمونه ها، میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر قرائت شد.

۳-۲- اندازه گیری خاصیت آنتی اکسیدانی (مهار رادیکال آزاد DPPH)

فعالیت آنتی اکسیدانی نمونه های ژله رویال توسط روش اوکادا و اوکادا (۱۹۹۸) با اندکی تغییر ارزیابی شد (۲۴). فعالیت آنتی اکسیدانی ژله رویال در حضور رادیکال آزاد او-دی فنیل-۲-پیکریل هیدرازیل (DPPH) به روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. مقدار ۱/۲۵ میلی لیتر از محلول ژله رویال (۰/۴۵ گرم بر میلی لیتر) حل شده در آب مقطر با ۱/۵ میلی لیتر محلول متانولی DPPH (۹۰ میکروگرم بر میلی لیتر) مخلوط شد و پس از ۵ دقیقه جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر در مقابل متانول: آب (۱:۱) به عنوان شاهد قرائت گردید. نمونه کنترل طبق روش بالا تهیه شد با این تفاوت که به جای محلول ژله رویال، ۱/۲۵ میلی لیتر متانول با ۱/۵ میلی لیتر محلول DPPH مخلوط شد. فعالیت آنتی اکسیدانی در ژله رویال به صورت درصد بازدارندگی بیان شد و با استفاده از فرمول (۱) محاسبه گردید (۱۶).

فرمول (۱): $100 \times \frac{(A_{blank} - A_{sample})}{A_{blank}}$ = درصد به دام انداختن رادیکال آزاد (مهار رادیکال آزاد DPPH)

در مرحله بعد، از مقدار ۳۰۰ میلی گرم در میلی لیتر ژله رویال حل شده در آب مقطر و الکل ۱۰٪ سریال دایلوئشنی با رقت های (۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪) تهیه گردید و با ۰/۱ میلی مولار محلول متانولی DPPH در حجم نهایی ۵۰ میلی لیتر

۲-۴- بررسی اثر ضد میکروبی ژله رویال و تعیین شاخص قطر هاله عدم رشد

محلول های مورد آزمون از ژله رویال های نگهداری شده در دمای ۱۰- درجه سلیسیوس، دور از نور و رطوبت، در غلظت های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد وزنی/حجمی در حلال آبی با استفاده از آب مقطر استریل و حلال بافر با استفاده از محلول بافر فسفات (pH=7) تهیه شدند. جهت تعیین اثر ضد میکروبی هر دو نوع محلول به روش انتشار دیسک، سوسپانسون باکتری معادل نیم مک فارلند تهیه شد و روی محیط کشت مولر هیتون آگار تلقیح گردید و سپس دیسک های آغشته به غلظت های مختلف (۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵ و ۳۰ درصد وزنی/حجمی) از عصاره های آبی و بافری ژله رویال با فاصله استاندارد بر روی محیط کشت قرار گرفت. بعد از

استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵٪ با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل ۲۰۱۰ استفاده شد.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- بررسی میزان فنول کل و سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها با استفاده از روش DPPH

از آن جایی که عصاره های گیاهی منتج شده به محصول ژله رویال، دارای خاصیت دارویی و آنتی‌اکسیدانی بوده و دلیل این خاصیت را به مشتقات اسیدهای فنولی و فلاونوئیدها نسبت می‌دهند بنابراین اسید گالیک به صورت نمادی از ترکیبات فنولی بیان شد (۹ و ۷). لذا مقدار کل ترکیبات فنولی به روش فولین سیوکالتو بر مبنای منحنی استاندارد اسید گالیک محاسبه گردید مقادیر کل ترکیبات فنولی در شکل (۲) ارایه شد. مقدار کل ترکیبات فنولی در ژله های رویال تازه و خشک شده تصعیدی به ترتیب ۸۰۴/۱۰ و ۱۶۳۱/۴۰ میکروگرم اسید گالیک در گرم ژله رویال اولیه بود که بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به ژله رویال خشک شده تصعیدی بود که اختلاف معنی داری با مقدار ژله رویال تازه نشان داد.

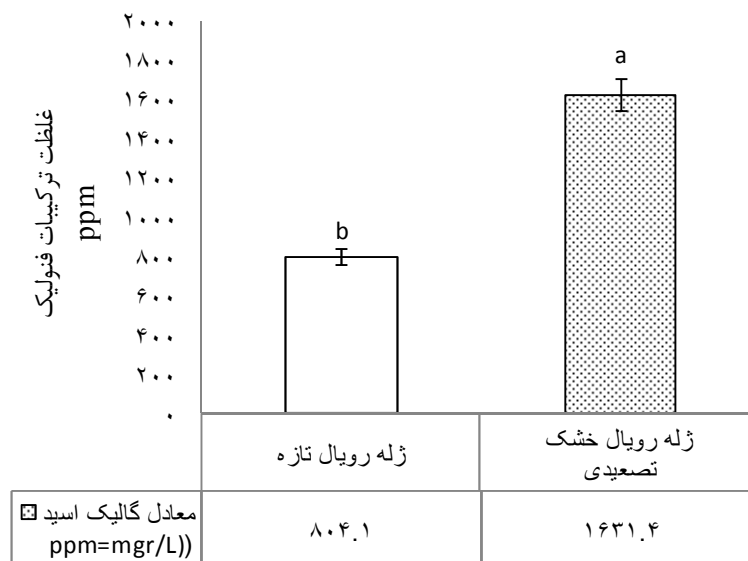
گرمخانه گذاری ۲۴ ساعته در دمای ۳۷ درجه سلیسیوس، قطر هاله عدم رشد برای هر باکتری اندازه گیری شد (۳۱).

۲-۵- بررسی اثر ضد میکروبی ژله رویال و تعیین شاخص MIC

به منظور تعیین مقاومت سویه ها نسبت به عصاره های ژله رویال به روش میکروبراث دیلوشن، شاخص حداقل غلظت بازدارندگی رشد (MIC) اندازه گیری شد. در این روش رقت های متوالی از عصاره های آبی و بافری با غلظت های ثابتی از سوسپانسیون باکتری که کدورتی معادل نیم مک فارلند دارد، در لوله های آزمایش حاوی TSB مخلوط گردید. پس از ۲۴ ساعت گرماگذاری، چگالی نوری (Optical Density=OD) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی و پایین ترین غلظتی که مانع از رشد باکتری شده به عنوان MIC در نظر گرفته شد (۶).

۲-۶- آنالیز آماری نتایج

کلیه آنالیزهای میکروبی نمونه های ژله رویال در سه تکرار انجام گرفت. تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از آزمون‌ها با استفاده از طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین نمونه‌ها با

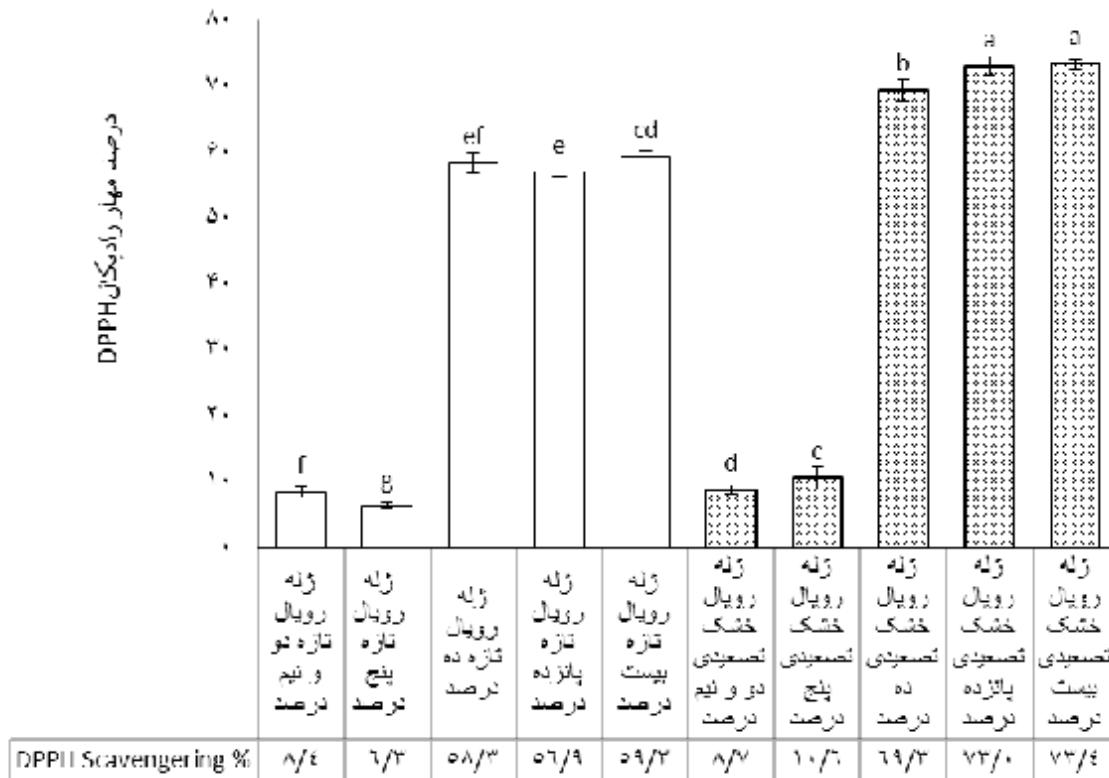


شکل ۲- مقایسه مقادیر (میانگین \pm انحراف معیار) کل ترکیبات فنولی

*حروف مختلف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ می باشند ($P < ۰/۰۵$). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

آنتی اکسیدانی مربوط به نمونه ژله رویال خشک شده تصعیدی و کمترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به نمونه تازه ژله رویال به دست آمد. این در حالی است که فعالیت آنتی اکسیدانی در تمام نمونه های ژله رویال به طور نسبی وجود داشت به عبارتی خشک کردن تصعیدی ممکن است باعث افزایش استخراج فنول تام شده باشد، زیرا این روش می تواند باعث توسعه بلورهای یخ درون سلول ها شده و این کریستال های یخ می توانند باعث تخریب هر چند بسیار جزئی ساختمان سلولی شده که این امر به حلال برای استخراج بیشتر ترکیبات آنتی اکسیدانی کمک کرده است (۱).

آزمون مهار رادیکال DPPH یکی از سریع ترین آزمون های موجود برای بررسی کلی فعالیت اهدای هیدروژن/ الکترون آنتی اکسیدان ها و مکمل های آنتی اکسیدانی است. رادیکال آزاد DPPH دارای این مزیت است که تحت تاثیر برخی از واکنش های جانبی مانند شلاته کردن یون فلزی و مهار آنزیم قرار نمی گیرد (۱۳). خواص آنتی اکسیدانی ژله رویال، بر پایه پنج غلظت ۲/۵، ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰٪ انجام گردید. نتایج این آزمون به صورت درصد فعالیت آنتی اکسیدانی بین دو نمونه ژله رویال در شکل (۳) قابل مشاهده است. بر اساس نتایج بدست آمده در تمام سطوح غلظتی، بیشترین فعالیت



شکل ۳- مقایسه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (میانگین \pm انحراف معیار) ژله رویال تازه و خشک شده تصعیدی در غلظت‌های مختلف محلول تهیه شده (درصد)

*حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند ($P < ۰/۰۵$). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

ترکیبات و نیز تعداد و موقعیت گروه‌های هیدروکسیل موجود در حلقه آروماتیک این ترکیبات است. در مجموع، افزایش غلظت ترکیبات فنولی به طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رادیکال آزاد افزایش داده است (۲۰). در عصاره‌های طبیعی که محتوی ترکیبات فنولی قابل‌سنجش بالاتری هستند، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش یافته است (۲۸). اثر گذر زمان و مدت نگهداری عصاره‌ها و میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی انواع عصاره‌های ژله رویال، توسط دیگر پژوهشگران نیز مورد بررسی قرار گرفته است و وجود رابطه معکوسی بین زمان نگهداری ژله رویال با

همان طور که در شکل (۳) نشان داده شد در تمام سطوح غلظتی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های ژله رویال به طور نسبی وجود داشت. این امر احتمالاً ناشی از وجود میزان ترکیبات فنولی کل در عصاره‌های ژله رویال مورد مطالعه بر میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که با گزارش‌های کیم و همکاران (۲۰۰۴) در بررسی محتوای ترکیبات فنولی و قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های با منشأ طبیعی، مطابقت داشت (۱۴). ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره طبیعی وجود داشت (۷ و ۳۰)، لذا نتایج این تحقیق با گزارشات یاد شده مطابقت داشت. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی موجود در عصاره‌های طبیعی مانند انواع عصاره‌های آبی و بافری ژله رویال ناشی از نوع و غلظت این

و با مقدار 28.14 ($mg/0.1\ CC$) از ماده موثره ژله رویال بود. در مقایسه دیگر باکتری های مورد استفاده در آزمایش، اثرات یکسان و حداقلی در ارتباط با MIC مشاهده گردید که تفاوت معنی داری از لحاظ آماری در سطح $0.05 < P$.) در مجموع خاصیت مهارکنندگی عصاره آبی و عصاره بافری ژل رویال بر باکتری های مورد مطالعه مشابه بود (شکل ۴). همان گونه که پیش بینی شد در مجموع باکتری های گرم مثبت با درجات مختلفی از حساسیت، بیشترین حساسیت و باکتری گرم منفی کمترین حساسیت و محدودشوندگی را در برابر تیمارهای آبی و بافری ژله رویال نشان دادند. این امر می تواند ناشی از ساختار محافظت کنندگی داخلی پیچیده تر باکتری های گرم منفی باشد (۲). این نتایج با دیگر تحقیقات انجام شده در مورد اثر بازدارندگی عصاره ژله رویال بر باکتری های پاتوژنی همسو بود. مقادیر MIC در شکل (۴) نیز نشان داد که حداکثر مقدار MIC متعلق به باکتری گرم منفی اشیریشیا کلی بود. یعنی باکتری های گرم مثبت نسبت به اثرات مهاري نمونه های ژله رویال مورد استفاده در آزمایش، بسیار حساستر از باکتری گرم منفی اشیریشیا کلی بودند. نتایج گارسیا و همکاران (۲۰۰۷) نیز اثر عصاره ژله رویال را بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نشان داد که عصاره ژله رویال بر این باکتری عفونت زا اثر بازدرندگی معنی داری داشته است (۹). باسولدو و همکاران (۲۰۰۷) نیز اثر آنتی باکتریال ژله رویال و عسل را بر باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و دو باکتری دیگر بررسی نمودند (۳). رشد باکتری های در پژوهش آن ها تحت تاثیر عصاره ژله رویال کاهش یافت اما در برابر عسل مقاومت اندکی نشان داد که علتش وجود ترکیبات ضد باکتریایی قوی موجود در ژله رویال مانند HDA-10 (۱۰) - هیدروکسی دکونوئیک اسید) بود که در عسل وجود ندارند (۳۲). نتایج این پژوهش نشان داد که اثر آنتی باکتریال ژله رویال تازه به میزان معنی داری با اثر ژله پودر شده متفاوت بوده است. این نتایج با بررسی میزان ماندگاری خواص آنتی باکتریال ژله رویال بر چند باکتری گرم مثبت شامل، استافیلوکوکوس

قدرت آنتی اکسیدانی گزارش شد (۲۲ و ۲۱ و ۱۷). در این مطالعه نیز بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به نمونه ژله رویال خشک شده تصعیدی شده گزارش گردید. بنابراین بسیار محتمل است که ترکیبات دخیل در ایجاد اثر آنتی اکسیدانی در ژله رویال دارای ماهیت نسبتا ناپایداری بوده است. این موضوع از نظر طبیعی نیز قابل توجیه است زیرا زنبورهای عسل معمولا چنین محصولاتی را به سرعت و درست در زمان تولید آنها در اختیار لاروهای تازه متولد شده یا ملکه مادر قرار می دهند. بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی در ژله رویال طی ۲۴ ساعت اولیه تولید آن، دیده شد (۱۷). مطابق با تحقیق پادمانابهان و جانگل (۲۰۱۲) فعالیت مهار رادیکال DPPH در برخی مواد (در غلظت ۱۰۰ میکروگرم در میلی لیتر) از جمله آلوئه ورا، گیاهان دارویی، بوتیل هیدروکسی تولوئن و ویتامین سی مورد ارزیابی قرار گرفت و میزان بازدارندگی بترتیب $47/38$ ، $63/75$ ، $44/70$ و $80/38$ ٪ گزارش گردید و با در نظر داشتن مقادیر بازدارندگی ژله رویال تازه و خشک شده تصعیدی که در دامنه غلظت تهیه شده $20 - 10$ ٪ به ترتیب $4/73 - 3/58$ ٪ گزارش شد، می توان دریافت که این ویژگی در ژله رویال نه تنها کمتر از گیاهان دارویی نبوده بلکه در قیاس با آنتی اکسیدان های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن قابل توجه و مشهود و نزدیک به اسید آسکوربیک بوده است (۲۵).

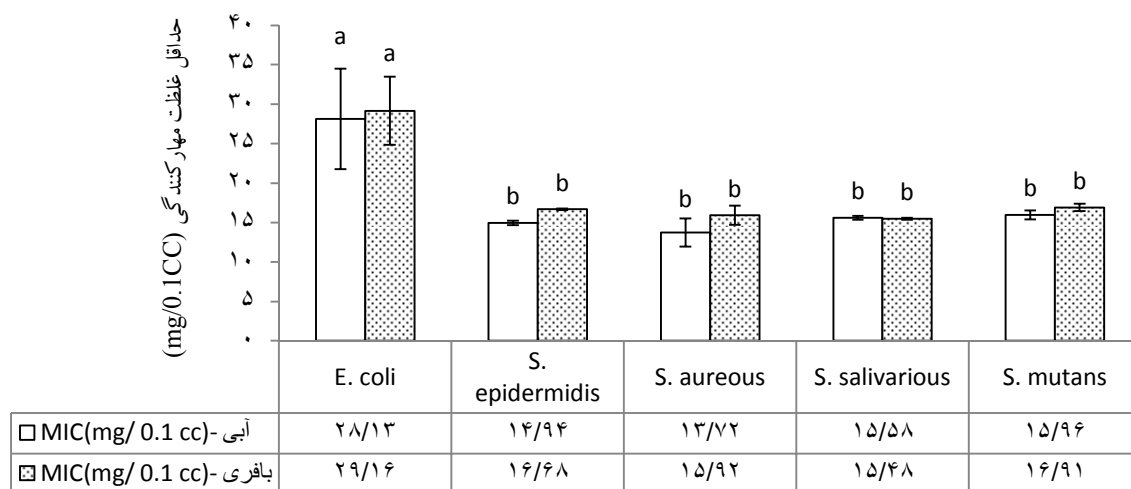
۳-۲- بررسی خاصیت ضد میکروبی نمونه های مختلف ژله

رویال به روش حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC)

آزمون بررسی حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) ژله رویال به روش رقت سازی در محیط کشت مایع انجام گردید. شکل (۴) بیان گر نتایج MIC در بین نمونه های مختلف ژله رویال بر روی پنج باکتری مورد آزمایش بود. با توجه به نتایج حاصل از نمودار به دست آمده از مقادیر MIC، اثر ژله رویال مورد استفاده در آزمایش در تمام باکتری ها به جز باکتری گرم منفی اشیریشیا کلی، یکسان مشاهده گردید. به طوری که حداکثر مقدار MIC متعلق به باکتری گرم منفی اشیریشیا کلی

مطالعه مشابه بود که می‌تواند ناشی از قابلیت حلالیت یکسان آب و بافر برای ترکیبات موثره با خاصیت ضد باکتریایی ژله رویال باشد. با این حال اشراقی و سیف الهی (۲۰۰۳) در بررسی اثر عصاره های آبی و اتانولی ژله رویال بر سویه های مختلف باکتری استروپتومایسیس، پیشنهاد کردند که تاثیر متفاوت این دو نوع عصاره به دلیل قابلیت حل شدن متفاوت ترکیبات پروتینی شناخته شده دارای خاصیت آنتی‌باکتریال در ژله رویال مانند 10-HDA است (۴).

اورئوس و گرم منفی مانند اشیشیا کلی در تایلند هم‌خوانی داشت (۲). راتان ولاچی و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که مدت زمان نگهداری ژله رویال حتی به صورت خشک شده بر خاصیت آنتی‌میکروبی آن اثر منفی داشته و با افزایش زمان نگهداری، از میزان قدرت آنتی‌میکروبی ژله رویال کاسته و پس از مدتی در یک سطح حداقلی ثابت مانده است (۲۷). می‌توان علت این پدیده را ناشی از پایداری متغیر ترکیبات دارای نقش آنتی‌باکتریال ژله رویال دانست. نتایج اثر ضد میکروبی عصاره آبی و عصاره بافری بر باکتری‌های مورد



شکل ۴- مقایسه خاصیت ضد میکروبی نمونه‌های مختلف ژله رویال به روش حداقل غلظت مهارکنندگی (میانگین MIC \pm انحراف معیار) *حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ می‌باشند ($P < ۰/۰۵$). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

استرپتوکوکوس سالواریوس بیشترین مقدار هاله عدم رشد به دست آمده مربوط به غلظت ۲۵ درصد آبی مشاهده گردید. غلظت ۱۰ درصد آبی و بافری، هیچ گونه اثر مهاری بر باکتری نشان نداد (جدول ۱). نمودار مقایسه قطر هاله بدست آمده از تاثیر غلظت‌های مختلف آبی و بافری ژله رویال، نشان داد که هر دو نمونه ۱۰ درصد بافری و آبی از ژله‌های رویال تهیه شده، هیچ گونه اثر منفی بر باکتری استافیلوکوکوس اورئوس نداشت. ولی سایر سطوح غلظتی دیگر ژله رویال، اثرات هم‌سانی بر دفع باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از خود نشان دادند (جدول ۱). در مورد تنها باکتری گرم منفی مورد بررسی،

۳-۳- بررسی خاصیت ضد میکروبی نمونه‌های مختلف

ژله رویال به روش انتشار دیسک (قطر هاله عدم رشد)

آزمون مقایسه قطر هاله عدم رشد بر ۴ باکتری گرم مثبت و یک باکتری گرم منفی به روش انتشار دیسک انجام شد. بین غلظت‌های مختلف ژله رویال بر باکتری استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، عدم تاثیر غلظت ۱۰ درصد آبی ژله رویال مشهود بود و سایر غلظت‌های عصاره ژله رویال (شامل نوع آبی و بافری) تاثیر به نسبت یکسانی در حذف باکتری نشان دادند. با این حال بیشترین مقدار اثرگذاری مربوط به غلظت ۱۵ درصد از نمونه آبی مشاهده گردید (جدول ۱). در باکتری

بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت های ۲۵ درصد آبی و ۲۵ درصد بافری و کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت ۱۰ درصد آبی و بافری دیده شد (جدول ۱). نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد در غلظت های مختلف ژله رویال در جدول ۱ دیده شد. در تمام غلظت های مورد مطالعه خاصیت

بازدارندگی رشد بر باکتری استروپتوکوکوس موتانس مشاهده گردید و حداکثر قدرت بازدارندگی رشد مربوط به غلظت ۲۵ درصد آبی مشاهده گردید. غلظت های ۱۰ و ۱۵ درصد بافری حداقل مقدار هاله عدم رشد را نشان دادند.

جدول ۱- مقایسه قطر هاله عدم رشد (میلی متر) در غلظت های مختلف آبی و بافری ژله رویال

نوع باکتری					محلول درصد
استروفیلوکوکوس اپیدرمیدیس	استریپتوکوکوس سالیواریوس	استافیلوکوکوس اورئوس	اشریشیا کلی	استریپتوکوکوس موتانس	
۰±۰ ^d	۰±۰ ^f	۰±۰ ^b	۰±۰ ^d	۲۲/۰۲±۲/۲۲ ^e	۱۰
۲۵/۶۶±۰/۵۳ ^a	۱۳/۱۴±۱/۴۸ ^e	۹/۴۳±۰/۶۲ ^a	۷/۸۴±۰/۱ ^c	۲۸/۰۶±۰/۶۲ ^c	۱۵
۲۳/۳۹±۰/۵۹ ^{abc}	۱۷/۰۶±۲/۲۲ ^{cd}	۱۰/۶±۰/۳۶ ^a	۹/۵±۰/۴۱ ^{ab}	۲۸/۸۴±۰/۸۷ ^c	۲۰
۲۳/۲۱±۱/۸۵ ^{abc}	۲۱/۶۱±۱/۵۸ ^{ab}	۱۱/۳۲±۱/۳ ^a	۱۰/۶۴±۱/۴۸ ^a	۳۱/۵۲±۰/۶۳ ^b	۲۵
۲۰/۸۹±۱/۱۲ ^{bc}	۱۸/۷۱±۲/۸۴ ^{bc}	۱۳/۰۷±۴/۴۳ ^a	۱۱/۰۸±۰/۹ ^a	۳۴/۲±۰/۲۵ ^a	۳۰
۱۹/۳۳±۱/۳۷ ^c	۰±۰ ^f	۰±۰ ^b	۰±۰ ^d	۱۸/۸۶±۱/۶ ^f	۱۰
۲۰/۳۵±۳/۴۳ ^{bc}	۱۴/۰۳±۱/۱۴ ^{de}	۹/۴۳±۰/۶۲ ^a	۸/۹۲±۰/۸۷ ^{bc}	۱۸/۷۸±۰/۶۸ ^f	۱۵
۲۳/۱۴±۲/۷۵ ^{abc}	۱۵/۶±۲/۲۷ ^{cde}	۱۰/۶±۰/۳۶ ^a	۹/۸۳±۱/۳۷ ^{ab}	۲۶/۰۸±۰/۳۷ ^d	۲۰
۲۴/۲۲±۴/۲۷ ^{ab}	۱۶/۷۲±۲/۶۸ ^{cd}	۱۱/۳۲±۱/۳ ^a	۱۰/۷۱±۱/۳۵ ^a	۲۸/۲۷±۰/۷۷ ^c	۲۵
۲۴/۱۴±۳/۹۵ ^{ab}	۲۲/۸۸±۲/۴۸ ^a	۱۳/۰۷±۴/۴۳ ^a	۱۰/۵۵±۰/۴۷ ^{ab}	۳۱/۲۵±۱/۱۴ ^b	۳۰

حروف مختلف در هر ستون نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح 0.05 می باشند (P < 0.05). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

میکروبی به کسب مقاومت و سازگاری در برابر آن‌ها شده است (۲۳). چنین ویژگی منحصر به فردی که کمتر در دیگر محصولات آنتی‌باکتریال دیده می‌شود، بر ارزش این محصول طبیعی و ارزشمند افزوده و این ماده را در اذهان علمی مورد توجه خاص قرار داده است.

۴- نتیجه‌گیری

علیرغم تنوع در خاستگاه و میزان ماندگاری ژله رویال، هم‌چنان آثار معنی‌دار فعالیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌میکروبی در آنها قابل‌سنجش است. ترکیبات موجود در ژله رویال که مسئول ایجاد خواص فوق‌هستند، از نظر شیمیایی نسبتاً ناپایدار بوده و به مرور زمان از میزان اثر بخشی آن‌ها کاسته شد. باکتری گرم مثبت نسبت به انواع گرم منفی، حساسیت بسیار کمتری در برابر عوامل فعال در عصاره‌های ژله رویال داشت. با این حال ژله رویال می‌تواند بر این نوع باکتری مقاوم نیز اثرگذار باشد. توسعه پروتکل‌های طبیعی برای مبارزه با بیماری‌های عفونت‌زا به ویژه عوامل پاتوژنی دهانی - روده‌ای پیشنهاد می‌شود.

۵- سپاسگزاری

از دانشگاه آزاد اسلامی اصفهان (واحد خوراسگان) به دلیل حمایت‌های آزمایشگاهی در خصوص اجرای صحیح آزمایشات تشکر و قدردانی می‌نمایم.

۶- منابع

1. Al- Rawahi, A., Rahman, M. S., Guizani, N. and Musthafa, M. E. 2013. Chemical Composition, Water Sorption Isotherm, and Phenolic Content in Fresh and Dried Pomegranate peels. *Journal of Drying Technology*, 31(3):257-263.
2. Alreshoodi, M. F. and Sultanbawa, Y. 2015. Antimicrobial Activity of Royal Jelly. *Anti-Infective Agents*, 13(1): 50-59.
3. Basualdo, C., Sgroi, V., Finola, M. S. and Marioli, J. M. 2007. Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated

بر اساس نتایج جدول (۱) مقایسه قطر هاله عدم رشد (میلی متر) در غلظت‌های مختلف آبی و بافری ژله رویال، تاثیرپذیرترین باکتری نسبت به غلظت‌های مختلف آبی ژله رویال، استرپتوکوکوس موتانس بود و مقاوم‌ترین باکتری نسبت به تیمارهای آبی ژله رویال، اشیریشیا کلی بود که به دلیل گرم منفی بودن این باکتری، اثرات مقاومت ناشی از این باکتری قابل‌انتظار بود نتایج این پژوهش نشان داد که اثر آنتی‌باکتریال ژله رویال تازه به میزان معنی‌داری با اثر ژله پودر شده متفاوت است. این نتایج با بررسی میزان ماندگاری خواص آنتی‌باکتریال ژله رویال بر چند باکتری گرم مثبت شامل: استافیلوکوکوس اورئوس و گرم منفی مانند: اشیریشیا کلی در تایلند هم‌خوانی داشت (۲). راتان ولاچی و همکاران (۲۰۰۲) نشان دادند که مدت زمان نگهداری ژله رویال حتی به صورت خشک شده بر خاصیت آنتی‌میکروبی آن اثر منفی داشته و با افزایش زمان نگهداری، از میزان قدرت آنتی‌میکروبی ژله رویال کاسته شده و پس از مدتی در یک سطح حداقلی ثابت ماند (۲۷). علت آن ناشی از پایداری متغییر ترکیبات دارای اثر آنتی‌باکتریال ژله رویال بود. نتایج اثر ضد میکروبی عصاره آبی و بافری بر باکتری‌های مورد مطالعه مشابه بود که می‌تواند ناشی از قابلیت انحلال ترکیبات موثره محلول در آب و بافر در خاصیت ضد باکتریایی ژله رویال باشد. با این حال اشراقی و سیف‌الهی (۲۰۰۳) در بررسی اثر عصاره‌های آبی و اتانولی ژله رویال بر سویه‌های مختلف باکتری‌ها، تاثیر متفاوت این دو نوع عصاره به دلیل قابلیت حل‌شدن متفاوت ترکیبات پروتینی با خاصیت آنتی‌باکتریال در ژله رویال (مانند 10-HDA) بوده است (۵). از آنجایی که این ترکیب مهم محلول در اتانول است، رشد همه سویه‌های مورد تیمار با عصاره الکلی کاهش یافت. ژله رویال از مهم‌ترین محصولات تولیدی زنبور عسل بوده و دارای خواص تغذیه‌ای و دارویی (آنتی‌میکروبی و آنتی‌اکسیدانی) است. ویژگی منحصر به فرد ساختار پروتئین‌های موجود در محصولات زنبور عسل به ویژه ژله رویال باعث عدم توانایی عوامل

- Escherichia coli from other gram- negative mastitis pathogens. *Journal of veterinary Diagnostic Investigation*, 13(3): 273-275.
- 16.Lin, M. Y. and Chang, F. J. 2000. Antioxidative effect of intestinal bacteria Bifidobacterium longum ATCC 15708 and Lactobacillus acidophilus ATCC 4356. *Digestive Diseases and Sciences*, 45(8): 1617-1622.
- 17.Liu, J. R., Yang, Y. C., Shi, L. S. and Peng, C. C. 2008. Antioxidant properties of royal jelly associated with larval age and time of harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(23): 11447-11452.
- 18.Maa, Y. F., Nguyen, P. A., Sweeney, T., Shire, S. and C. Hsu, C. 1199. Protain Inhalation powders Spray Drying vs Spray Freez Draying. *Pharmaceutical Research*, 16(2): 249-254.
- 19.Moselhy, W., Fawzy, A. and Kamel, A. 2013. An evaluation of the potent antimicrobial effects and unsaponifiable matter analysis of the royal jelly. *Life Science Journal*, 10(2): 290-296.
- 20.Nabas, Z., Haddadin, M. S. Y., Haddadin, J. and Nazer, I. K. 2014. Chemical composition of royal jelly and effects of synbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activities. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 64(3): 171-180.
- 21.Nagai, T. and Inoue, R. 2004. Preparation and the functional properties of water extract and alkaline extract of royal jelly. *Food Chemistry*, 84(2): 181-186.
- 22.Nagai, T., Inoue, R., Suzuki, N. and Nagashima, T. 2006. Antioxidant properties of enzymatic hydrolysates from royal jelly. *Journal of Medicinal Food*, 9(3): 363-367
- 23.Nagai, T., Sakai, M., Inoue, R., Inoue, H. and Suzuki, N. 2001. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis. *Food Chemistry*, 75(2): 237-240.
- 24.Okada, Y. and Okada, M. 1998. Scavenging effect of water soluble proteins in broad beans on free radicals and active oxygen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(2): 401-406.
- 25.Padmanabhan, P. and Jangle, S.N. 2012. Evaluation of DPPH Scavenging activity and reducing power of four selected medicinal plants and their combinations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 4(2):143-146
- from skin wounds. *Veterinary Microbiology*, 124(3): 375-381.
- 4.Davis, J. A., Farrahand, S. R. and Wilkie, A. C. 2006. Selective growth of staphylococcus aureus from flushed dairy manure wastewater using acriflavine- supplemented mannitol salt agar. *Journal of Applied Microbiology*, 42(6): 606-611.
- 5.Eshraghi, S. and Seifollahi, F. 2003. Antibacterial effects of royal jelly on different strains of bacteria. *Iranian Journal of Public Health*, 32(1): 25-30.
- 6.European committee for Antimicrobial susceptibility Testing, 2003. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and infection*, 8(9): 761-906.
- 7.Fang, Z., Zhang, Y., Lu, Y., Ma, G., Chen, J., Lin, D. and et al. 2009. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. *Food Chemistry*, 113(4): 884-888.
- 8.Fontana, R., Mendes, M. A., Desouza, B. M., Konno, k., Cesar, L. M., Malaspina, O. and et al. 2004. Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honeybees (*Apis mellifera*). *Peptides*, 25(6): 919-928.
- 9.Garcia-Amoedo, L. H. and Almeida-Muradian, L. B. d. 2007. Physicochemical composition of pure and adulterated royal jelly. *Química Nova*, 30(2): 257-259.
- 10.Glinski, Z. and Jarosz, J. 1995. Cellular and humoral defences in honey bees. *Bee World*, 76(4): 195-205.
- 11.Gold, G. O. and Jordan, H. V. 1973. medium for Streptococcus A selective Mutans. *Archives of Oral Biology*, 18(11): 1357-1364.
- 12.Hansen, H. and Brodsgaard, C.J. 1999. American foulbrood: a review of its biology, diagnosis and control. *Bee World*, 80(1): 5-23.
- 13.Khalil, M.I., Mahaneem, M., Jamalullail, S. M. S., Alam, N. and Sulaiman, S. A. 2011. Evaluation of radical scavenging activity and colour intensity of nine Malaysian honeys of different origin. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(1): 4-11.
- 14.Kim, D. O., Padilla-Zakour, O. and Griffiths, P. 2004. Flavonoids and antioxidant capacity of various cabbage genotypes at juvenile stage. *Journal of Food Science*, 69(9): 685-689.
- 15.Leininger, D. J. and Roberson, J. R. 2001. Use of eosin methylene blue agar to differentiate

- proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. *Cellular and Molecular Life Science*, 54(9): 1020-1030.
30. Unver, A., Arslan, D., Ozcan, M. M. and Akbulut, M. 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices. *World Applied Sciences Journal*, 6(3): 373-377.
- Wallace, R., Dalovisio, J. and Pankey, G. 1979.
31. Disk diffusion testing of susceptibility of *Mycobacterium fortuitum* and *Mycobacterium chelonae* to antibacterial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 16(5): 611-614.
32. Zhou, J., Xue, X., Li, Y., Zhang, J. and Zhao, J. 2007. Optimized determination method for trans-10-hydroxy-2-decenoic acid content in royal jelly by high-performance liquid chromatography with an internal standard. *Journal of AOAC International*, 90(1): 244-249.
26. Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *African Journal of Biotechnology*, 5(11): 1142-1145.
27. Ratanavalachai, T. and Wongchai, V. 2002. Antibacterial Activity of Intact Royal Jelly, Its Lipid Extract and Its Defatted Extract. *Thammasat International journal and Science Technology*, 7(1):1-4.
28. Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. A. and Saura-Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32(6): 407-412.
29. Schmitzova, J., Kludiny, J., Albert, S., Schroder, W., Schreckengost, W., Hanes, J. and et al. 1998. A family of major royal jelly

(Original Research Paper)
Antioxidant Activity of Aqueous and Buffer Extracts of Fresh and Freeze-Dried Royal jelly and Their Antibacterial Effects on Human Oral and Enteral Bacteria

Mercedeh Maleki¹, Mohammad Goli^{2*}, Elham Khosravi³

1-MSc, Department of Food Science and Technology, Isfahan(Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

2-Associate Professor: Department of Food Science and Technology, Isfahan(Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

3-Instructor, Department of Food Science and Technology, Isfahan(Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Received: 12/11/2018

Accepted:01/09/2019

Abstract

Royal Jelly (RJ) has long been used to treat diseases and, particularly, infections. In the present study, attempts have been made to measure the antioxidative and antimicrobial effects of Royal Jelly on oral bacteria, including *Streptococcus (mutans, epidermidis)*, *Staphylococcus aureus*, and gastro-intestinal bacteria (*Streptococcus salivarius*, *Escherichia coli*). At first, the researchers investigated the effect of a water and phosphate buffer-based solvent for the extraction of phenolic compounds and antioxidative extracts obtained from two different samples of Royal Jelly (Fresh Iranian RJ, Freeze-dried Iranian RJ). The antimicrobial properties of the 10, 15, 20, 25 and 30 % water and phosphate buffer -based solvent were measured using micro broth dilution test for assessing of (Minimum Inhibitory Concentration) and Disk Diffusion test for assessing of diameter of inhibition zone. The results showed that the highest amounts of phenolic compounds were related to the Freeze-dried Iranian RJ sample. Comparing the scavenging property of the antioxidants in the samples revealed that the highest and the lowest values of this property at all investigated concentration levels were to freeze- dried RJ and Fresh Iranian RJ, respectively. The investigation of the antimicrobial properties of the samples also showed that the most affected bacterium at different concentrations of water and phosphate buffer-based extract RJ was *Streptococcus mutans* and the most resistant was *E. coli*. Regarding the buffer concentrations of the samples, the obtained results were similar to those of water-extract samples. The highest MIC value was obtained for *E. coli*. Therefore, RJ can be regarded as a natural source of antioxidants due to the presence of phenolic compounds in it.

Keywords: Royal Jelly, Antioxidant - Antibacterial Properties, Phenolic Compounds, Minimum Inhibitory Concentration, Diameter of Inhibition Zone.

*Corresponding Author: mgolifood@yahoo.com