فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آبی و بافری ژله رویال تازه و خشک شده به روش انجمادی و اثرات ضد باکتریایی آنها بر باکتری‌های دهانی و روده‌ای انسان

مرسده مالکی[1]، محمد گلی[2*]، الهام خسروی[3]

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

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

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

تاریخ دریافت: 1398/08/21 تاریخ پذیرش: 1398/06/10

چکیده

ژله رویال از دیرباز دارای نقش درمانی برای بیماری‌ها به‌ویژه عفونت‌ها بوده است. دراین مطالعه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و اثر ضد میکروبی ژله رویال بر باکتری‌های دهانی شامل: *استرپتوکوک* (*موتانس*، *اپیدرمیدیس*)، *استافیلوکوک اورئوس* و باکتری‌های معده - روده‌ای (*استرپتوکوک سالیواریوس*، *اشریشیا کلی*) مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا تأثیر دو حلال آبی و بافر فسفات بر میزان استحصال ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره استخراج شده از 2 نمونه ژله رویال (تازه ایرانی، خشک تصعیدی ایرانی) بررسی شد. خواص ضد میکروبی عصاره ها در دو حلال آبی و بافر فسفات در غلظت های10، 15، 20 ، 25 و 30% به روش میکروبراث دیلوشن(شاخص حداقل غلظت بازدارندگی رشد) و انتشار دیسک(قطر هاله عدم رشد) اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد، بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به ژله رویال خشک تصعیدی ایرانی با 146/56 میکروگرم گالیک اسید در میلی لیتر ژله رویال بود. در ارتباط با خاصیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها، بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به ژله رویال خشک تصعیدی با73/4% و کمترین مربوط به ژله رویال تازه ایرانی با 6/3% بود. در بررسی خاصیت ضد میکروبی نمونه‌ها، تاثیر پذیرترین باکتری نسبت به غلظت‌های مختلف آبی و بافری ژله رویال، *استرپتوکوک موتانس* و مقاوم‌ترین، *اشریشیا کلی* مشاهده شد. در ارتباط با غلظت‌های بافری نمونه ها، نتایج مشابهی با غلظت های آبی مشاهده گردید. در مورد میزان حداقل غلظت مهارکنندگی(MIC)، بیشترین درصد برای *اشریشیا کلی* در عصاره بافری گزارش شد. به این ترتیب می توان ژله رویال را به عنوان منبعی از آنتی‌اکسیدان طبیعی معرفی نمود که ناشی از حضور ترکیبات فنولی موجود دراین ماده است.

واژه های کلیدی: ژله رویال، خواص آنتی‌اکسیدانی- آنتی‌باکتریایی، ترکیبات فنولی، حداقل غلظت بازدارندگی، قطر هاله عدم رشد

* مسؤول مکاتبات: mgolifood@yahoo.com

1- مقدمه

ژله رویال اصلی‌ترین غذا در کلنی زنبورهای عسل می باشد که توسط غدد زیر حلقی و غدد شیری در زنبورهای کارگر، در دوره زمانی 5 تا 15 روزه‌ای آنها تولید می شود. این ماده نقش بسیار مهمی در رشد و تکامل ملکه زنبور عسل ایفا می‌کند زیرا در طی سه روز اول عمر، همه لاروها بصورت غیر انتخابی با این ماده تغذیه می‌شوند اما پس از آن، تنها لارو ملکه برای تمام مدت عمر خود از ژله رویال تغذیه خواهد نمود (29). ترکیبات اصلی ژله رویال زنبور عسل در بین ژله بدست آمده در مناطق جغرافیای مختلف، اندکی متغییر است اما بطور عمومی می‌تواند حاوی 65-70% آب، 12-17% پروتئین کل، 3-4% چربی کل و 10-12% قند کل باشد. ژله رویال هم‌چنین حاوی انواع ویتامین و پلی پپتیدهای سودمند و البته اسیدهای آمینه آزاد است(21). 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 بیوشمیایی است. لاور زنبور عسل ممکن است توسط انواع مختلفی از بیماری‌های باکتریایی، قارچی یا پرتوزوایی مورد تهدید و آسیب جدی قرار گیرند. خطرناکترین و رایج‌ترین بیماری باکتریایی در بین لاروهای زنبور عسل به بیماری لوک آمریکایی (AFB) معروف است که توسط اسپور باکتری (*پائنی باسیلوس لاروائه لاروائه*) ایجاد می‌شود(12). زنبورهای عسل ترکیبات پروتئینی بسیار موثر و قدرتمندی را برای مقابله با آلودگی میکروبی در انواع محصولات تولیدی در کندوی زنبور عسل ترشح می‌کنند. 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 می‌شوند(10). گروه خاصی از ترکیبات دفاعی که در رشد و نمو زنبور عسل بسیار مهم می‌باشد، انواعی از پروتئین ها، پپتید ها و ترکیباتی با وزن مولکولی اندک هستند که در ژله رویال ترشح می‌شوند. بخش عمده‌ای از خانواده پروتئین‌های موجود در ژله رویال (درحدود90%) دارای نقش تغذیه‌ای می‌باشند(29). پروتئین‌های موجود در عصاره قلیایی و آبی ژله رویال دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بسیار بالا با توانایی مهار رادیکال‌های آزاد هستند و فعالیت آنتی‌اکسیدانی با گذشت زمان کاهش می‌یابد(23). اثر آنتی‌باکتریال ژله رویال بر 6 باکتری در محیط کشت نشان داد که مواد محلول در اتر ژله رویال حاوی ماده‌ای باکتری‌کش به نام رویالیسین بوده که دارای فعالیت بالقوه آنتی‌باکتریال است(4 و 19). ژله رویال بکر بیشترین فعالیت آنتی‌باکتریایی را داشت(27). بیماری‌های میکروبی دهان و دندان از انواع رایج آلودگی‌های باکتریایی می‌باشند. عوامل رادیکال آزاد اکسیژنی که به عنوان اکسیدکننده‌های قوی شناخته می‌شوند قادرند صدمات جدی به ساختار سلولی میکروبی وارد کنند. لذا با توجه به ویژگی‌های بسیار متنوع و در برخی موارد منحصر به فرد ژله رویال در مقابله با بیماری‌های میکروبی و عوامل آنتی‌اکسیدانی، و افزایش توجه جوامع علمی و صنعتی به این ماده درصنعت غذایی و به ویژه صنایع غذا- دارو، سبب شد در این پژوهش ابتدا میزان ترکیبات فنولی کل(بر اساس معادل اسید گالیک) و فعالیت آنتی‌اکسیدانی(درصد مهار رادیکال DPPH) و سپس برای اولین بار اثر آنتی‌میکروبی 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*[1]*،استرپتوکوکوس سالیواریوس*[2]*، استافیلوکوکوس اورئوس*[3]*، استرپتوکوکوس موتانس*[4] و یک باکتری گرم منفی

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

شامل *اشریشیا کلی*[1] 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.

2- مواد و روش ها

تعداد 2 نمونه ژله رویال مورد مطالعه در این تحقیق در سال 1394 از زنبورستان مرکز تحقیقات کشاورزی اصفهان (ایرانی) تهیه گردید. 2 نمونه به صورت تازه و پودر (خشک تصعیدی) مورد استفاده قرار گرفت. به منظور انجام آزمایشات مواد و دستگاه های ذیل مورد استفاده گردید: معرف فولین سیوکالتو 0/4 نرمال با خلوص 100% از شرکت سیگما، سدیم کربنات 0/7 مولار با خلوص 99/6% از شرکت مرک آلمان، اسید گالیک با خلوص 100% از شرکت سیگما، DPPH 0/06 میلی مولار با خلوص 100% از شرکت سیگما، متانول با خلوص 99/9% از شرکت مرک آلمان، دستگاه اسپکتوفتومتر مدل cray 50 تایوان، ترازوی دیجیتال sartorios آلمان، دستگاه خشک کن تصعیدی مدل VACDR-1000 از شرکت وکیوم پمپ آسیا،محیط کشت مولر هینتون آگار[2] برای تست آنتی بیوگرام از شرکت کیولب کانادا ، محیط کشت مانیتول سالت آگار[3] از شرکت کیولب کانادا (4)، محیط کشت میتیس سالیواریوس آگار[4] از شرکت کیولب کانادا (11)، محیط کشت ائوزین متیلن بلو[5] از شرکت کیولب کانادا (15)، محیط کشت تریپتیک سوی براث[6] از شرکت کیولب کانادا (5). برای کشت سویه های باکتری گرم مثبت و گرم منفی استفاده شد. سویه‌های میکروبی مورد استفاده در این تحقیق شامل *اشریشیا کلی* (PTCC 1338)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (PTCC 1189)، *استرپتوکوکوس موتانس* (PTCC 1683)، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (PTCC 1436) و *استرپتوکوکوس سالیواریوس* (PTCC 1448) از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران دریافت شد.

2- 1 - اندازه گیری غلظت ژله ها

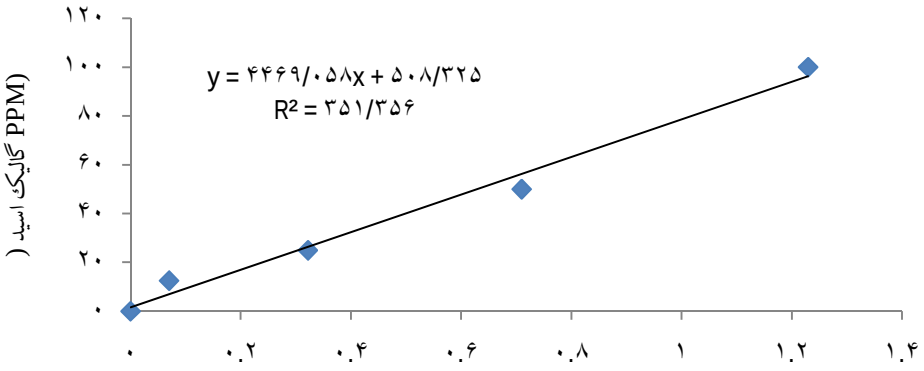
جهت انجام آزمایشات مورد استفاده در این مطالعه، درصد ماده خشک موجود در ژله رویال اندازه‌گیری شد. برای این منظور، ژله رویال تازه را با ضخامت کم در پتری دیش ریخته و در سینی دستگاه خشک کن تصعیدی مارک دنا قرار داده شد. آبگیری تحت شرایط دمایی 40- درجه سلیسیوس و میزان خلاء 0/001میلی بار به مدت 24 ساعت صورت گرفت(18). 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 100 محاسبه گردید. برای محاسبه درصد ماده خشک نیز درصد رطوبت از 100 کم شد(18). میزان متوسط ماده خشک ژله‌های مورد استفاده حدود 32 درصد بود. تمامی محلول‌های ساخته شده(آبی و بافری) بر اساس ماده خشک مواد اولیه تنظیم و تهیه گردید.

2 – 2- اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی نمونه‌های ژله رویال

مقدار کل ترکیبات فنولی موجود در ژله رویال به روش فولین- سیوکالتو (7 ،26) مورد بررسی قرار گرفت. به طور خلاصه، 2/5 گرم از هر نمونه ژله رویال در 25 میلی‌لیتر آب مقطر حل و توسط کاغذ فیلتر واتمن 4 فیلتر شد. 0/5 میلی‌لیتر از این محلول با 2/5 میلی‌لیتر از معرف فولین- سیوکالتو 0/4 نرمال مخلوط گردید و به مدت 5 دقیقه تکان داده شد پس از آن 2 میلی‌لیتر سدیم کربنات 0/7 مولار به محلول اضافه گردید و به مدت 2 ساعت در دمای محیط و در تاریکی نگهداری شد. سپس مقدار جذب محلول توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 760 نانومتر دربرابر نمونه شاهد قرائت گردید. برای تهیه نمونه شاهد به جای 2/5 گرم ژله رویال، 2/5 گرم متانول خالص برداشته شد و بقیه مراحل طبق

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 محلول‌های اسید گالیک به روش پورمراد و همکاران، 2006 مطابق با شکل (1) رسم شد(26).



شکل1- میزان دانسیته نوری به روش اسپکتروفتومتری بر مبنای غلظت گالیک اسید

2–3– اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی(مهار رادیکال آزاد DPPH)

فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های ژله رویال توسط روش اوکادا و اوکادا (1998) با اندکی تغییر ارزیابی شد(24). فعالیت آنتی‌اکسیدانی ژله رویال در حضور رادیکال آزاد 1و1- دی فنیل-2-پیکریل هیدرازیل(DPPH) به روش اسپکتروفتومتری انجام گرفت. مقدار 1/25 میلی‌لیتر از محلول ژله رویال(0/045 گرم بر میلی‌لیتر) حل شده در آب مقطر با 1/5 میلی لیتر محلول متانولی DPPH (90 میکروگرم بر میلی لیتر) مخلوط شد و پس از 5 دقیقه جذب در طول موج 517 نانومتر در مقابل متانول:آب (1:1) به عنوان شاهد قرائت گردید. نمونه کنترل طبق روش بالا تهیه شد با این تفاوت که به جای محلول ژله رویال، 1/25 میلی لیتر متانول با 1/5 میلی لیتر محلول DPPH مخلوط شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی در ژله رویال به صورت درصد بازدارندگی بیان شد و با استفاده از فرمول(1) محاسبه گردید(16).

فرمول (1): $[(A_{blank}- A_{sample})/A_{blank}] \times 100$ = درصد به دام انداختن رادیکال آزاد (مهار رادیکال آزاد DPPH)

در مرحله بعد، از مقدار 300 میلی‌گرم در میلی‌لیتر ژله رویال حل شده در آب مقطر و الکل 10% سریال دایلوشنی با رقت‌های (2/5، 5، 10، 15و 20%) تهیه گردید و با 0/1 میلی مولار محلول متانولیDPPH در حجم نهایی50 میلی‌لیتر مخلوط شد پس از آماده کردن نمونه‌ها در غلظت‌های محاسبه شده و هم‌چنین آماده کردن نمونه شاهد در غلظت‌هایی مشابه نمونه‌های مورد استفاده، تا حجم نهایی 1 میلی‌لیتر به نمونه‌ها، محلول DPPH اضافه شد و پس از مدت زمان ثابت (بین 10 تا 30 دقیقه) برای تمام نمونه ها، میزان جذب در طول موج 517 نانومتر قرائت شد.

2-4- بررسی اثر ضد میکروبی ژله رویال و تعیین شاخص قطر هاله عدم رشد

محلول‌های مورد آزمون از ژله رویال‌های نگهداری شده در دمای 10- درجه سلیسیوس، دور از نور و رطوبت، در غلظت‌های 10، 15، 20، 25 و30 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 هینتون آگار تلقیح گردید و سپس دیسک های آغشته به غلظت های مختلف (10، 15، 20، 25 و 30 درصد وزنی/حجمی) از عصاره‌های آبی و بافری ژله رویال با فاصله استاندارد بر روی محیط کشت قرار گرفت. بعد از

گرمخانه گذاری 24 ساعته در دمای 37 درجه سلیسیوس، قطر هاله عدم رشد برای هر باکتری اندازه گیری شد(31).

2-5- بررسی اثر ضدمیکروبی 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) اندازه‌گیری 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 24 ساعت گرماگذاری، چگالی نوری (Optical Density=OD) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر بررسی و پایین‌ترین غلظتی که مانع از رشد باکتری شده به عنوان MIC در نظرگرفته شد(6).

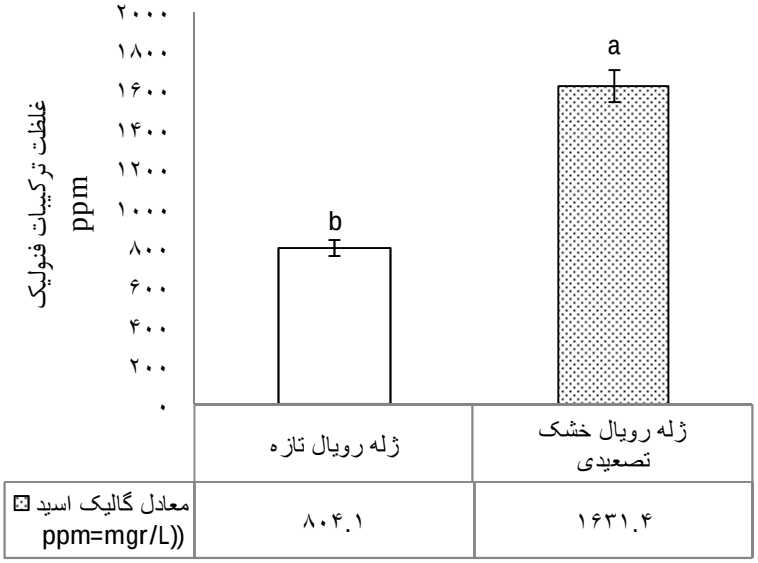
2-6- آنالیز آماری نتایج

کلیه آنالیزهای میکروبی نمونه‌های ژله‌رویال در سه تکرار انجام گرفت. تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از آزمون‌ها با استفاده از طرح کاملا تصادفی و مقایسه میانگین نمونه‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان 95% با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار اکسل 2010 استفاده شد.

3- نتایج و بحث

3-1- بررسی میزان فنول کل و سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها با استفاده از روش DPPH

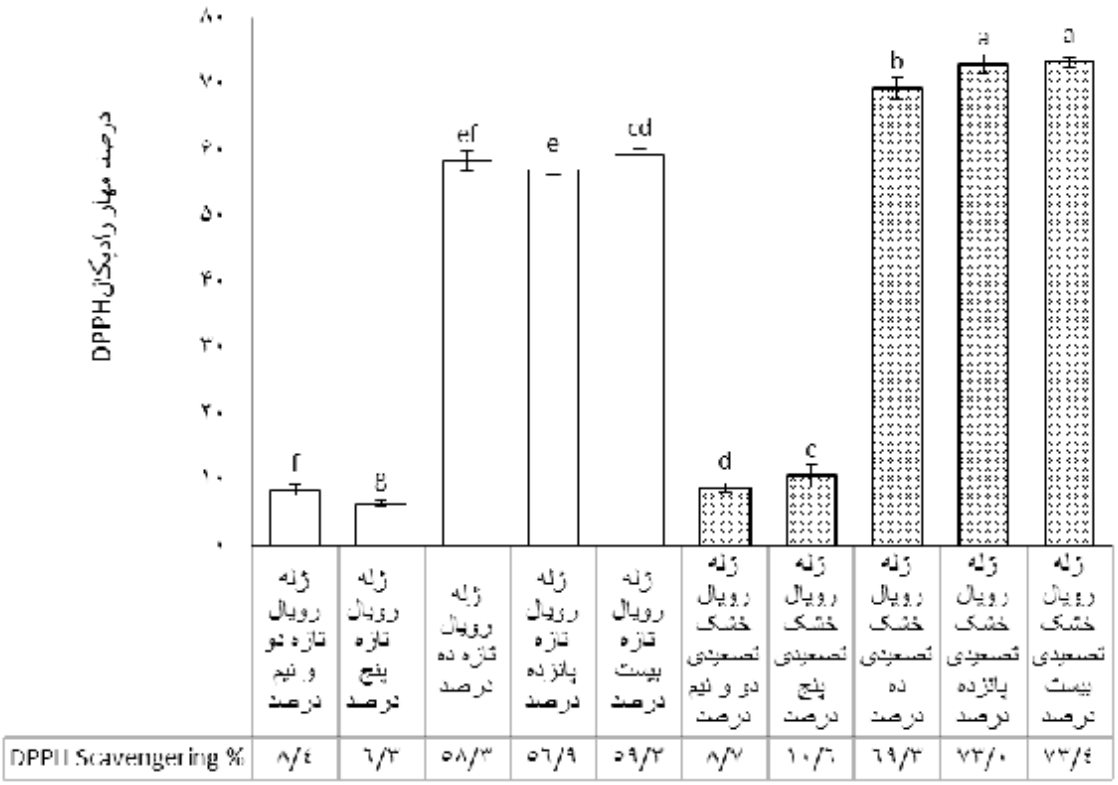
از آن جایی که عصاره های گیاهی منتج شده به محصول ژله رویال، دارای خاصیت دارویی و آنتی‌اکسیدانی بوده و دلیل این خاصیت را به مشتقات اسیدهای فنولی و فلاوونوئیدها نسبت می‌دهند بنابراین اسید گالیک به صورت نمادی از ترکیبات فنولی بیان شد(9 و 7). لذا مقدار کل ترکیبات فنولی به روش فولین سیوکالتو بر مبنای منحنی استاندارد اسید گالیک محاسبه گردید مقادیر کل ترکیبات فنولی در شکل(2) ارایه شد. مقدار کل ترکیبات فنولی در ژله های رویال تازه و خشک شده تصعیدی به ترتیب 804/10 و 1631/40 میکروگرم اسید گالیک در گرم ژله رویال اولیه بود که بیشترین میزان ترکیبات فنولی مربوط به ژله رویال خشک شده تصعیدی بود که اختلاف معنی‌داری با مقدار ژله رویال تازه نشان داد.



شکل 2- مقایسه مقادیر(میانگین± انحراف معیار) کل ترکیبات فنولی

*حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح 0/05 می‌باشند(P<۰/05). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

آزمون مهار رادیکال DPPH یکی از سریع‌ترین آزمون‌های موجود برای بررسی کلی فعالیت اهدای هیدروژن/ الکترون آنتی‌اکسیدان‌ها و مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی است. رادیکال آزاد DPPH دارای این مزیت است که تحت تاثیر برخی از واکنش‌های جانبی مانند شلاته کردن یون فلزی و مهار آنزیم قرار نمی‌گیرد(13). خواص آنتی اکسیدانی ژله رویال، بر پایه پنج غلظت 2/5، 5، 10، 15 و 20% انجام گردید. نتایج این آزمون به صورت درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی بین دو نمونه ژله رویال در شکل(3) قابل مشاهده است. بر اساس نتایج بدست آمده در تمام سطوح غلظتی، بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نمونه ژله رویال خشک شده تصعیدی و کمترین مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به نمونه تازه ژله رویال به دست آمد. این در حالی است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی در تمام نمونه‌های ژله رویال به طور نسبی وجود داشت به عبارتی خشک کردن تصعیدی ممکن است باعث افزایش استخراج فنول تام شده باشد، زیرا این روش می‌تواند باعث توسعه بلورهای یخ درون سلول‌ها شده و این کریستال‌های یخ می‌توانند باعث تخریب هر چند بسیار جزئی ساختمان سلولی شده که این امر به حلال برای استخراج بیشتر ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کمک کرده است(1).



شکل 3- مقایسه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی(میانگین± انحراف معیار) ژله رویال تازه و خشک شده تصعیدی در غلظت‌های مختلف محلول تهیه شده (درصد)

*حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح 0/05 می‌باشند($P<0/05$). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

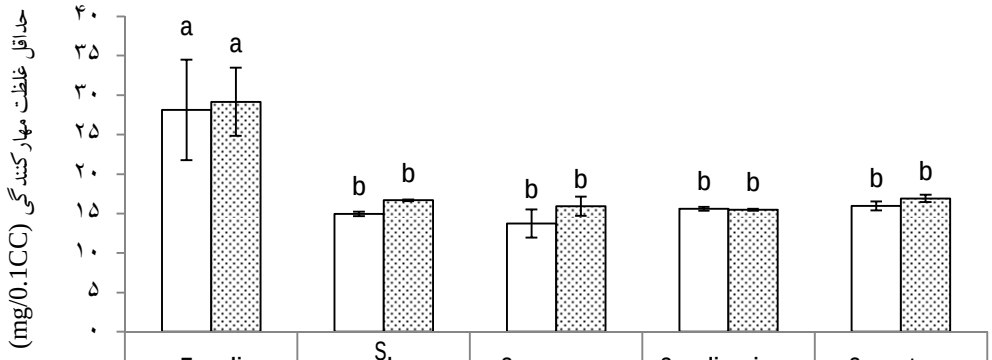
همان طور که در شکل(3) نشان داده شد در تمام سطوح غلظتی فعالیت آنتی‌اکسیدانی در نمونه‌های ژله رویال به طور نسبی وجود داشت. این امر احتمالا ناشی از وجود میزان ترکیبات فنلی کل در عصاره های ژله رویال مورد مطالعه بر میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی بوده که با گزارش‌های کیم و همکاران(2004) در بررسی محتوای ترکیبات فنولی و قدرت احیاءکنندگی عصاره های با منشا طبیعی، مطابقت داشت(14). ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنولی و قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره طبیعی وجود داشت(30و7)، لذا نتایج این تحقیق با گزارشات یاد شده مطابقت داشت. پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی موجود در عصاره های طبیعی مانند انواع عصاره‌های آبی و بافری ژله رویال ناشی از نوع و غلظت این 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(20). در عصاره‌های طبیعی که محتوی ترکیبات فنولی قابل‌سنجش بالاتری هستند، به دلیل افزایش تعداد گروه های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکالهای آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش یافته است(28). 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

قدرت آنتی‌اکسیدانی گزارش شد (22و 21و17). در این مطالعه نیز بیشترین فعالیت آنتی اکسیدانی مربوط به نمونه ژله رویال خشک شده تصعیدی شده گزارش گردید. بنابراین بسیارمحتمل است که ترکیبات دخیل در ایجاد اثر آنتی‌اکسیدانی 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 می‌دهند. بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی در ژله رویال طی 24 ساعت اولیه تولید آن، دیده شد(17). مطابق با تحقیق پادمانابهان و جانگل(2012) فعالیت مهار رادیکال DPPH در برخی مواد (در غلظت 100 میکروگرم در میلی‌لیتر) از جمله آلوئه ورا،گیاهان دارویی، بوتیل هیدروکسی تولوئن و ویتامین سی مورد ارزیابی قرار گرفت و میزان بازدارندگی بترتیب 38/47، 63/75، 44/70و 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 73/4 – 58/3% گزارش شد، می‌توان دریافت که این ویژگی در ژله رویال نه تنها کمتر از گیاهان دارویی نبوده بلکه در قیاس با آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن قابل توجه و مشهود و نزدیک به اسید آسکوربیک بوده است(25).

3-2-بررسی خاصیت ضد میکروبی نمونه‌های 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(4) بیان‌گر نتایج MIC در بین نمونه‌های 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 باکتری‌ها به جز باکتری گرم منفی *اشرشیا کلی*، یکسان مشاهده گردید. به طوری که حداکثر مقدار MIC متعلق به باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* 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 مشاهد گردید که تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح 0/05دیده نشد(P<0/05). در مجموع خاصیت مهارکنندگی عصاره آبی و عصاره بافری ژل رویال بر باکتری‌های مورد مطالعه مشابه بود (شکل 4). همان‌گونه که پیش‌بینی شد در مجموع باکتری‌های 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 می‌تواند ناشی از ساختار محافظت‌کنندگی داخلی پیچیده‌تر باکتری‌های گرم منفی باشد(2). این نتایج با دیگر تحقیقات انجام شده در مورد اثر بازدارندگی عصاره ژله رویال بر باکتری‌های پاتوژنی همسو بود. مقادیر MIC در شکل(4) نیز نشان داد که حداکثر مقدار MIC متعلق به باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* بود. یعنی باکتری های گرم مثبت نسبت به اثرات مهاری نمونه‌های ژله رویال مورد استفاده در آزمایش، بسیار حساستر از باکتری گرم منفی *اشریشیا کلی* بودند. نتایج گارسیا و همکاران (2007) نیز اثر عصاره ژله رویال را بر باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* نشان داد که عصاره ژله رویال بر این باکتری عفونت‌زا اثر بازدرندگی معنی‌داری داشته است(9). باسولدو و همکاران(2007) نیز اثر آنتی‌باکتریال ژله رویال و عسل را بر باکتری *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و دو باکتری دیگر بررسی نمودند(3). رشد باکتری‌های 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 10-HDA(10- هیدروکسی دکونوئیک اسید) بود که در عسل وجود ندارند(32). نتایج این پژوهش نشان داد که اثر آنتی باکتریال ژله رویال تازه به میزان معنی‌داری با اثر ژله پودر شده متفاوت بوده است. این نتایج با بررسی میزان ماندگاری خواص آنتی‌باکتریال ژله رویال بر چند باکتری گرم مثبت شامل، *استافیلوکوکوس*

اورئوس و گرم منفی مانند *اشریشیا کلی* در تایلند هم‌خوانی داشت (2). راتان ولاچی و همکاران (2002) 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(27). می‌توان علت این پدیده را ناشی از پایداری متغییر ترکیبات دارای نقش آنتی‌باکتریال ژله رویال دانست. نتایج اثر ضد میکروبی عصاره آبی و عصاره بافری بر باکتری‌های مورد 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 (2003) 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(4).



	E. coli	S. epidermidis	S. aureous	S. salivarious	S. mutans
آبی -MIC(mg/ 0.1 cc)	۲۸/۱۳	۱۴/۹۴	۱۳/۷۲	۱۵/۵۸	۱۵/۹۶
بافری -MIC(mg/ 0.1 cc)	۲۹/۱۶	۱۶/۶۸	۱۵/۹۲	۱۵/۴۸	۱۶/۹۱

شکل 4- مقایسه خاصیت ضد میکروبی نمونه‌های مختلف ژله رویال به روش حداقل غلظت مهارکنندگی (میانگین MIC ± انحراف معیار)

*حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح 0/05 می‌باشند (P <0/05). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

3-3- بررسی خاصیت ضد میکروبی نمونه‌های مختلف ژله رویال به روش انتشار دیسک (قطر هاله عدم رشد)

آزمون مقایسه قطر هاله عدم رشد بر 4 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 10 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 15 درصد از نمونه آبی مشاهده گردید (جدول 1). در باکتری *استرپتوکوکوس سالواریوس* بیشترین مقدار هاله عدم رشد به دست آمده مربوط به غلظت 25 درصد آبی مشاهده گردید. غلظت 10 درصد آبی و بافری، هیچ گونه اثر مهاری بر باکتری نشان نداد (جدول 1). نمودار مقایسه قطر هاله بدست آمده از تاثیر غلظت‌های مختلف آبی و بافری ژله رویال، نشان داد که هر دو نمونه 10 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 1). در مورد تنها باکتری گرم منفی مورد بررسی،

بیشترین قطر هاله عدم رشد در غلظت های 25 درصد آبی و 25 درصد بافری و کمترین قطر هاله عدم رشد در غلظت 10 درصد آبی و بافری دیده شد(جدول 1). نتایج حاصل از قطر هاله عدم رشد در غلظت‌های مختلف ژله رویال در جدول 1 دیده شد. در تمام غلظت‌های مورد مطالعه خاصیت بازدارندگی رشد بر باکتری *استروپتوکوکوس موتانس* مشاهده گردید و حداکثر قدرت بازداری رشد مربوط به غلظت 25 درصد آبی مشاهده گردید. غلظتهای 10 و 15 درصد بافری حداقل مقدار هاله عدم رشد را نشان دادند.

جدول 1- مقایسه قطر هاله عدم رشد(میلی متر) در غلظت‌های مختلف آبی و بافری ژله رویال

محلول	درصد	نوع باکتری				
		استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	*استرپتوکوکوس سالیواریوس*	*استافیلوکوکوس اورئوس*	*اشریشیا کلی*	*استرپتوکوکوس موتانس*
آبی	۱۰	۰±۰^{d}	۰±۰^{f}	۰±۰^{b}	۰±۰^{d}	۲۲/۰۲±۲/۲۲^{e}
	۱۵	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}
	۲۰	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}
	۲۵	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}
	۳۰	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}
بافری	۱۰	۱۹/۳۳±۱/۳۷^{c}	۰±۰^{f}	۰±۰^{b}	۰±۰^{d}	۱۸/۸۶±۱/۶^{f}
	۱۵	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}
	۲۰	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}
	۲۵	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}
	۳۰	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}

حروف مختلف در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح 0.05 می‌باشند($P < 0.05$). این آزمون در سه تکرار صورت گرفت.

بر اساس نتایج جدول (1) 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 مقاوم ترین باکتری نسبت به تیمارهای آبی ژله رویال، *اشریشیا کلی* بود که به دلیل گرم منفی بودن این باکتری، اثرات مقاومت ناشی از این باکتری قابل انتظار 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 آنتی باکتریال ژله رویال بر چند باکتری گرم مثبت شامل: *استافیلوکوکوس‌اورئوس* و گرم منفی مانند: *اشریشیاکلی* در تایلند هم‌خوانی داشت(2). راتان ولاچی و همکاران (2002) نشان دادند که مدت زمان نگهداری ژله‌رویال حتی به صورت خشک شده بر خاصیت آنتی‌میکروبی آن اثر منفی داشته و با افزایش زمان نگهداری، از میزان قدرت آنتی میکروبی ژله‌رویال کاسته شده و پس از مدتی در یک سطح حداقلی ثابت ماند(27). 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(2003) در بررسی اثر عصاره‌های آبی و اتانولی ژله‌رویال بر سویه‌های مختلف باکتری‌ها، تاثیر متفاوت این دو نوع عصاره به دلیل قابلیت حل‌شدن متفاوت ترکیبات پروتینی با خاصیت آنتی باکتریال در ژله رویال (مانند 10-HDA) بوده است(5). از آن جایی که این ترکیب مهم محلول در اتانول است، رشد همه سویه های مورد تیمار باعصاره الکلی کاهش یافت. ژله رویال از مهم‌ترین محصولات تولیدی زنبور عسل بوده و دارای خواص تغذیه ای 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 میکروبی به کسب مقاومت و سازگاری در برابر آن ها شده است(23). چنین ویژگی منحصر به فردی که کمتر در دیگر محصولات آنتی باکتریال دیده می‌شود، بر ارزش این محصول طبیعی و ارزشمند افزوده و این ماده را در اذهان علمی مورد توجه خاص قرار داده است.

4- نتیجه‌گیری

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

5- سپاسگزاری

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

6- 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., Sgroy, V., Finola, M. S. and Marioli, J. M. 2007. Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated

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 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

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 Activitv 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., Klaudiny, J., Albert, S., Schroder, W., Schreckengost, W., Hanes, J. and et al. 1998. A family of major royal jelly 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 chelonei 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.

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 Maleki[1], Mohammad Goli[2*], Elham Khosravi[3]

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