

## Research Paper

# Effects of Gamma Irradiation on the Properties of Bioactive Compounds of Bee Pollen

Parvin Shawrang<sup>1</sup> , Maryam Sadeghi<sup>2</sup> and Hamed Majidi-Zahed<sup>3</sup>

1- Associate professor, Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran, Tehran, Iran, (Corresponding author: pshawrang@aeoi.org.ir)

2- B. Sc., College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran

3- M. Sc., Nuclear Agriculture Research School, Nuclear Science and Technology Research Institute, Atomic Energy Organization of Iran, Tehran, Iran

Received: 16 December, 2023

Accepted: 12 March, 2024

### Extended Abstract

**Background:** Bee pollen is used in human and animal nutrition and is rich in bioactive compounds, such as flavonoids and polyphenols. It has a wide range of therapeutic properties and plays an important role in preventing diseases related to free radicals. The use of unprocessed bee pollen in human nutrition can be harmful due to the presence of allergenic compounds and contamination of the product. Bee pollen is a natural product and fungal contamination is possible during collection by insects or improper storage. Gamma irradiation can remove microbial contamination, increase protein bioavailability, change their function, and be used for bee pollen processing by changing the structure of allergenic compounds. This research aimed to study the effects of gamma irradiation on the properties of bioactive compounds, including protective effects against tissue damage, digestive system health, and anti-inflammatory and anti-allergenic effects of gamma-irradiated bee pollen.

**Methods:** Raw and gamma-irradiated bee pollen with a dose of 25 kGy of gamma rays in 2% of the basic diet was fed to 96 adult male Wistar rats. Experimental diets included no use of pollen, using raw bee pollen, and using gamma-irradiated bee pollen with a dose of 25 kGy. Sodium fluoride (1 g/kg of diet) was used to cause poisoning and tissue damage. After 42 days, the effects of pollen nutrition in preventing sodium fluoride toxicity were studied using histological studies and liver enzymes. The effects of pollen feeding on the microbial flora of the digestive tract, intestinal morphology, and villus growth were studied by sampling intestinal tissue and contents. Interleukin-4 was measured to study the antiallergic effects of pollen by the ELISA method. Experimental data were analyzed in a completely randomized experimental design using SAS statistical software. Means were compared with Duncan's test at the level of 5%.

**Results:** The total protein and malondialdehyde contents in the irradiated samples were not different from the control sample ( $p > 0.05$ ), but using bee pollen caused a decrease in serum alanine transferase ( $p < 0.05$ ). There was a significant difference in the amount of blood cations in the sodium fluoride group. The use of bee pollen improved the increase of sodium and potassium levels and the decrease of phosphorus in the sodium fluoride group ( $p < 0.05$ ). No significant difference was observed in serum interleukin-4 concentration in different treatments of raw and radiation-processed pollen with a dose of 25 kGy ( $p > 0.05$ ). The results of measuring the antimicrobial properties of gamma-irradiated pollen showed that irradiation did not affect the antimicrobial properties of bee pollen ( $p < 0.05$ ). The antimicrobial properties of bee pollen on Gram-positive bacteria are more than Gram-negative bacteria. Bee pollen has more antimicrobial activity against Gram-positive bacteria than Gram-negative bacteria and fungi. Bee pollen destroys Gram-positive and Gram-negative bacteria, but the sensitivity of Gram-positive bacteria is higher than that of Gram-negative bacteria due to the nature of the cell membrane layer. The use of pollen decreased the population of Gram-positive and Gram-negative bacteria in the intestine ( $p < 0.05$ ). The decrease in the population of intestinal bacteria can be due to the antimicrobial effects of pollen or changes in the morphology of the intestinal wall, which plays a role in bacterial attachment and establishment and prevents the destruction and damage of the intestinal epithelial cells. The histological results showed that the diet containing raw and irradiated bee pollen reduced sodium fluoride damage, including bleeding of

the testicles and digestive tract, hyperemia, and swelling of hepatocytes, and kidney damage. The morphological characteristics of the intestines of rats fed with pollen were significantly different from those fed with a pollen-free diet ( $p < 0.05$ ). In the experimental group of raw and processed pollen, the ratio of villus height to crypt depth and villus height increased in the duodenum, jejunum, and ileum ( $p < 0.05$ ). Diets containing sodium fluoride caused a decrease in villus length and crypt depth along the intestine, but the reduction percentage was lower in pollen-containing diets. There was a significant difference in the intestinal morphological characteristics of rats fed with both raw and processed pollens ( $p < 0.05$ ). The effect of raw pollen was greater in the duodenum and jejunum, but processed pollen increased the length of the villi in the ileum, though the depth of the ileal crypt was not different ( $p > 0.05$ ). The use of pollen caused an increase in the relative volume of the epithelium and a decrease in the connective tissue of the jejunum, along with increases in the villi length and the jejunum crypt depth. These results show the growth-stimulating effect of pollen on intestinal villi. The use of pollen increased the height of the villi and the depth of the intestinal crypt of the tested rats. Bee pollen gamma irradiation did not change this property of pollen, and it caused better functioning of the digestive system in cases such as the length of ileal villi.

**Conclusion:** According to the results of this research, a dose of 25 kGy of gamma radiation without negative effects on the properties of the bioactive compounds of bee pollen can be used for the radiation processing of bee pollen.

**Keywords:** Anti-allergy, Antimicrobial, Bee pollen, Gamma irradiation, Intestinal morphology

**How to Cite This Article:** Shawrang, P., Sadeghi, M., & Majidi Zahed, H. (2024). Effects of Gamma Irradiation on the Properties of Bioactive Compounds of Bee Pollen. *Res Anim Prod*, 15(3), 53-63. DOI: [10.61186/rap.15.3.53](https://doi.org/10.61186/rap.15.3.53)

## مقاله پژوهشی

## مطالعه اثرات پرتوتابی گاما بر خواص ترکیبات زیست فعال گرده زنبورعسل

پروین شورنگ<sup>۱</sup>، مریم صادقی<sup>۲</sup> و حامد مجیدی زاهد<sup>۲</sup>

۱- دانشیار، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، تهران، ایران، (نویسنده مسوول: pshawrang@aeei.org.ir)

۲- کارشناسی، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- کارشناسی ارشد، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای، پژوهشکده کشاورزی هسته‌ای، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۵

صفحه: ۵۳ تا ۶۳

## چکیده مسوط

**مقدمه و هدف:** گرده زنبورعسل در تغذیه انسان و دام کاربرد دارد. گرده زنبورعسل سرشار از ترکیبات زیست‌فعال، مانند فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها و دارای طیف وسیعی از خواص درمانی است و نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد دارد. مصرف گرده زنبورعسل فراوری نشده در تغذیه انسان به‌لحاظ داشتن ترکیبات حساسیت‌زا و آلودگی محصول می‌تواند زیانبار باشد. گرده زنبورعسل یک محصول طبیعی است و امکان آلودگی‌های قارچی در هنگام جمع‌آوری توسط حشرات و یا نگهداری نامناسب وجود دارد. پرتوتابی گاما این قابلیت را دارد که آلودگی‌های میکروبی را حذف، زیست‌فراهمی پروتئین را افزایش و با تغییر ساختار عوامل حساسیت‌زا سبب تغییر عملکرد آن‌ها شده و برای فراوری گرده زنبورعسل مورد استفاده قرار گیرد. این پژوهش با هدف مطالعه اثرات پرتوتابی بر خواص ترکیبات زیست‌فعال شامل اثرات محافظت‌کنندگی از آسیب‌های بافتی، سلامت دستگاه گوارش، اثرات ضدالتهابی و ضدحساسیت گرده زنبورعسل پرتوفراوری شده انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** برای این منظور گرده زنبورعسل خام و پرتوفراوری شده با دز ۲۵ کیلوگری پرتو گاما به‌مقدار ۲ درصد جیره پایه در تغذیه ۹۶ سر موش صحرایی و یستار بالغ نر استفاده شد. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- بدون استفاده از گرده ۲- استفاده از گرده زنبورعسل خام ۳- استفاده از گرده زنبورعسل پرتوفراوری شده با دز ۲۵ کیلوگری بود. از سدیم فلوراید (۱ گرم در کیلوگرم جیره) برای ایجاد مسمومیت و ایجاد آسیب‌های بافتی استفاده می‌شود و بعد از ۴۲ روز با استفاده از مطالعات بافت‌شناسی و سنجش آنزیم‌های کبدی اثرات تغذیه گرده در جلوگیری از سمیت سدیم فلوراید مورد مطالعه قرار گرفت. با نمونه‌برداری از بافت و محتویات روده اثرات تغذیه گرده بر فلور میکروبی دستگاه گوارش و مورفولوژی روده و رشد پرزها مطالعه شد. سنجش اینترلوکین-۴ برای مطالعه اثرات ضدحساسیت گرده به‌روش الایزا انجام شد. داده‌های آزمایشی در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار آمار SAS آنالیز و مقایسه میانگین‌ها به‌روش دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

**یافته‌ها:** مقدار پروتئین تام و مالون‌دی‌الدئید در نمونه‌های پرتوتابی شده تفاوتی با نمونه شاهد نداشت ( $p > 0.05$ ). ولی استفاده از گرده زنبورعسل سبب کاهش آلانین ترانسفراز سرم خون شد ( $p < 0.05$ ). مقدار کاتیون‌های خون در گروه سدیم فلوراید تفاوت معنی‌دار داشت. استفاده از گرده زنبورعسل افزایش سطح سدیم و پتاسیم و کاهش فسفر در گروه سدیم فلوراید را بهبود بخشید ( $p < 0.05$ ). غلظت اینترلوکین-۴ سرم خون در تیمارهای مختلف گرده خام و پرتوفراوری شده با دز ۲۵ کیلوگری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ). نتایج سنجش خواص ضد میکروبی گرده پرتوفراوری شده نشان داد که پرتوتابی تأثیری بر خواص ضد میکروبی گرده زنبورعسل ندارد ( $p < 0.05$ ). طبق نتایج خواص ضد میکروبی گرده زنبورعسل بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است. گرده زنبورعسل فعالیت ضد میکروبی بیشتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی و قارچ دارد. گرده زنبورعسل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را از بین می‌برد اما حساسیت باکتری‌های گرم مثبت به‌دلیل ماهیت لایه غشای سلولی نسبت به باکتری‌های گرم منفی بیشتر است. استفاده از گرده سبب کاهش جمعیت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی روده شد ( $p < 0.05$ ). کاهش جمعیت باکتری‌های روده می‌تواند به‌دلیل اثرات ضد میکروبی گرده و یا تغییرات در مورفولوژی دیواره روده باشد. تغییرات مورفولوژی دیواره روده در اتصال و استقرار باکتری‌ها نقش دارد و از تخریب و آسیب سلول‌های اپیتلیال روده جلوگیری می‌کند. نتایج بافت‌شناسی نشان داد که جیره حاوی گرده خام و گرده زنبورعسل پرتوتابی شده سبب کاهش آسیب‌های سدیم فلوراید شامل خونریزی بیضه‌ها و دستگاه گوارش، پرخونی و تورم هیپاتوسیت‌ها و آسیب‌های کلیوی شد. مشخصه‌های مورفولوژیکی روده موش‌های تغذیه شده با گرده تفاوت معنی‌دار با موش‌های تغذیه شده با جیره بدون گرده داشت ( $p < 0.05$ ). در گروه آزمایشی گرده خام و گرده پرتوفراوری شده نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و ارتفاع پرز در دندوم، ژژنوم و ایلئوم افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). جیره‌های حاوی سدیم فلوراید سبب کاهش طول پرز و عمق کریپت در طول روده شد ولی درصد کاهش در جیره‌های حاوی گرده کمتر بود. مشخصه‌های مورفولوژیکی روده موش‌های تغذیه شده با گرده خام و گرده پرتوفراوری شده تفاوت معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ). در دندوم و ژژنوم تأثیر گرده خام بیشتر بود ولی در ایلئوم گرده پرتوفراوری شده سبب طول پرز بیشتر شد ولی عمق کریپت ایلئومی تفاوتی نداشت ( $p > 0.05$ ). استفاده از گرده سبب افزایش حجم نسبی اپیتلیوم و کاهش بافت همبند ژژنوم شد و طول پرز و عمق کریپت ژژنوم افزایش پیدا کرد. این نتایج اثر محرک رشد گرده برای پرزهای روده را نشان می‌دهد. استفاده از گرده سبب افزایش ارتفاع پرز و عمق کریپت روده موش‌های مورد آزمایش شد. پرتوفراوری گرده نه‌تنها این خاصیت گرده را تغییر نداد بلکه در مواردی مثل طول پرز ایلئومی سبب عملکرد بهتر دستگاه گوارش شد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به نتایج این پژوهش از دز ۲۵ کیلوگری پرتو گاما بدون اثرات منفی بر خواص ترکیبات زیست‌فعال گرده زنبورعسل می‌توان برای پرتوفراوری گرده زنبورعسل استفاده کرد.

**واژه‌های کلیدی:** پرتوتابی گاما، ضدحساسیت، ضد میکروبی، گرده زنبورعسل، مورفولوژی روده

## مقدمه

حساسیت‌زا سبب تغییر عملکرد آن‌ها شده و برای فراوری گرده زنبورعسل مورد استفاده قرار گیرد.

گرده زنبورعسل سرشار از ترکیبات زیست‌فعال، مانند فلاونوئیدها و پلی‌فنول‌ها و دارای طیف وسیعی از خواص درمانی است و نقش مهمی در پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با رادیکال‌های آزاد دارد (Katarina et al., 2016). این پژوهش با هدف مطالعه اثرات پرتوتابی بر خواص ترکیبات زیست‌فعال شامل اثرات محافظت‌کنندگی از

مصرف گرده زنبورعسل فراوری نشده در تغذیه انسان به‌لحاظ داشتن ترکیبات حساسیت‌زا و آلودگی محصول می‌تواند زیانبار باشد. گرده زنبورعسل یک محصول طبیعی است و امکان آلودگی‌های قارچی در هنگام جمع‌آوری توسط حشرات و یا نگهداری نامناسب وجود دارد. پرتوتابی گاما این قابلیت را دارد که آلودگی‌های میکروبی را حذف، زیست‌فراهمی پروتئین را افزایش و با تغییر ساختار عوامل

ابتدا محلول‌های شماره ۱ ( TRIS, L-Alanine, Lactate ) و شماره ۲ ( dehydrogenase ) و شماره ۳ ( 2-Oxoglutarate, NADH ) به نسبت ۴ به ۱ با یکدیگر مخلوط شد؛ سپس ۱۰۰ میکرولیتر نمونه سرم با ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول آماده شده مخلوط و مقدار جذب نوری بعد از ۱، ۲ و ۳ دقیقه قرائت شد، میانگین اختلافات جذب نوری پس از دقیق ۱، ۲ و ۳ در عدد ۱۹۸۵ ضرب شد.

مقدار پروتئین کل سرم خون با استفاده از کیت توتال پروتئین شرکت زیست شیمی اندازه‌گیری شد. اساس این آزمایش روش بیره است. شدت رنگ حاصل متناسب با مقدار توتال پروتئین موجود در نمونه است. برای سنجش کل پروتئین سرم ابتدا مقدار ۵۰ میکرولیتر نمونه/استاندارد با ۲ میلی‌لیتر معرف مخلوط شد و ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد؛ سپس جذب نور نمونه‌ها مقابل بلانک معرف در ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

مقدار مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان ترکیب شاخص پراکسیداسیون با استفاده از روش تیوباریتوریک اسید تعیین شد. در این روش یک مولکول تیوباریتوریک اسید با دو مولکول مالون‌دی‌آلدئید واکنش داده و رنگ صورتی نمایان می‌شود. با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. رسم نمودار استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف مالون‌دی‌آلدئید خالص در برابر مقدار جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر انجام شد ( Sadeghi et al., 2011 ).

مقدار سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه فلیم‌فوتومتر Corning مدل ۴۱۰ اندازه‌گیری شد. مقادیر پتاسیم با گراف استاندارد ۰، ۲، ۴، ۸، ۱۰ و ۱۲ قسمت در میلیون و مقادیر سدیم با گراف استاندارد ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۵۰، ۳۰۰ و ۳۵۰ قسمت در میلیون قرائت شد. اندازه‌گیری مقدار کلسیم، منیزیم پلاسما با استفاده از روش تیتراسیون و اندازه‌گیری فسفر با استفاده از معرف هپتامولیدات آمونیوم-آمونیم وانادات و قرائت در طول موج ۴۷۰ نانومتر انجام شد.

**کشت میکروبی:** برای مطالعه اثرات تغذیه گرده بر جمعیت میکروبی روده از محتویات روده نمونه‌برداری و کشت میکروبی جهت شمارش کلنی انجام شد. قبل از انجام کشت تمامی وسایل و مواد مورد استفاده برای رقیق‌سازی و کشت میکروبی اتوکلاو شد. برای تهیه رقت‌های مختلف از محلول ۰/۹ درصد NaCl (۹ گرم در یک لیتر آب مقطر) استفاده شد. برای شمارش کلی باکتری‌ها از محیط کشت Plate count agar استفاده شد و محیط‌های کشت مورد استفاده جهت شمارش باکتری استافیلوکوکوس آرتوس، اشریشیاکولای، باکتری‌های مفید بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیل به‌ترتیب Baird parker agar + egg yolk، EMB Agar و MRS agar بود. محیط‌های کشت طبق توصیه شرکت سازنده (Merck) تهیه شد. کشت باکتری‌های مفید بیفیدوباکتریوم و لاکتوباسیل هر دو در محیط MRS agar انجام شد با این تفاوت که کشت بیفیدوباکتریوم به‌صورت بی‌هوازی و کشت لاکتوباسیل به‌صورت هوازی انجام شد.

آسیب‌های بافتی، سلامت دستگاه گوارش، اثرات ضدالتهابی و ضدحساسیت گرده زنبورعسل پرتوفراوری شده انجام شد.

#### مواد و روش‌ها

**پرتوتابی گاما:** نمونه‌های گرده زنبورعسل با استفاده از سامانه پرتوتابی چندمنظوره گاما مرکز بناب دارای چشمه کبالت-۶۰ با اکتیویته ۱۷۰ کیلوکوری با دز ۲۵ کیلوکوری گاما و نرخ متوسط ۰/۵ گری در ثانیه با دقت بیش از ۹۰ درصد صورت گرفت.

**جیره‌ها و حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده:** از ۹۶ سر موش صحرایی ویستار بالغ نر (۸ هفته، ۱۸۰ گرم) برای انجام آزمایشات استفاده شد. جیره‌های آزمایشی شامل ۱- جیره بدون گرده ۲- جیره حاوی گرده خام ۳- جیره حاوی گرده پرتوفراوری شده. گرده به‌مقدار ۲ درصد در جیره پایه (بر پایه کازئین و نشاسته ذرت) استفاده شد (Reeves et al., 1993).

اجزای جیره از شرکت خوراک‌پرداز هزاردشت واقع در شهرک صنعتی هشتگرد تهیه و با اضافه کردن ۱ درصد ملاس به‌عنوان بایندر با استفاده از پلت زن سرد به فرم فیزیکی پلت درآورده شد. موش‌ها آزادانه به آب و خوراک دسترسی داشتند. طول دوره آزمایشات ۴۲ روز بود و موش‌ها به‌مدت ۴۲ روز با جیره‌های آزمایشی تغذیه شدند. پس از پایان دوره آزمایشی (۴۲ روز)، به همه موش‌ها یک شب گرسنگی داده شد و پس از گرفتن نمونه خون، برای نمونه‌گیری بافت تشریح شدند.

**تیمارهای آزمایشی:** موش‌ها به ۶ گروه ۱۶ تایی تقسیم شدند. از سدیم فلوراید (۱ گرم در کیلوگرم جیره) برای ایجاد مسمومیت و ایجاد آسیب‌های بافت کبد، کلیه، بیضه استفاده شد. ۳ گروه بدون دریافت سدیم فلوراید و ۳ گروه دریافت‌کننده سدیم فلوراید بودند. با استفاده از مطالعات بافت‌شناسی و سنجش فعالیت آنزیم کبدی آلانین آمینوترانسفراز سرم خون اثرات تغذیه گرده در جلوگیری از سمیت سدیم فلوراید مورد مطالعه قرار گرفت (Khalil & El-Sheikh, 2010).

**بافت‌شناسی:** بافت کبد، کلیه، ابتدا با استفاده از سرم فیزیولوژیکی شستشو و سپس در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شد و پس از آبیگری با درجات صعودی اتانول به‌وسیله پارافین قالب‌گیری شد. برش‌گیری بافت با ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده از میکروتوم انجام شد. برش‌های تهیه شده با استفاده از رنگ همتاکسلین-اثوزین رنگ‌آمیزی و با استفاده از میکروسکوپ نوری (Nikon E100) مجهز به دوربین دیجیتال و نرم‌افزار DinoCapture ver.2 با درشت‌نمایی ۱۰۰× مشاهده و تصویربرداری شد ( Ross & Pawlina, 2016 ). برای مطالعه اثرات تغذیه گرده بر مورفولوژی روده و رشد پرزها از نمونه‌برداری بافت روده، بعد از ۹۰ روز از شروع آزمایش استفاده شد (Toman et al., 2015). سنجش طول پرز، عمق کریپت و عرض پرز با از دستگاه آنالیز تصویری متصل به میکروسکوپ نوری انجام شد.

**فراسنجه‌های خونی:** سنجش آلانین آمینوترانسفراز سرم خون پس از جداسازی سرم خون، با استفاده کیت پارس آزمو انجام شد. آماده‌سازی محلول‌ها برای سنجش آلانین آمینوترانسفراز طبق دستورالعمل کیت به‌شرح زیر انجام شد.

عصاره گرده (دزهای صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری) با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار (pH ۶/۶) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری سیانید ۱ درصد مخلوط شد و به مدت نیم‌ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد و سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزنی/حجمی) اضافه شد. سپس سانتریفیوژ با دور ۱۶۵۰ g به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت و ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی برداشته شد و با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول کلرید آهن ۰/۱ درصد (وزنی/حجمی) مخلوط شد و پس از ۱۰ دقیقه واکنش، جذب محلول حاصل در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. مقدار جذب بیشتر در نمونه‌ها معرف قدرت احیاکنندگی بیشتر است.

**خواص ضدحساسیت:** برای مطالعه اثرات ضدحساسیت گرده، بعد از پایان دوره آزمایش (دو ماه) و خون‌گیری از موش‌ها مقدار اینترلوکین-۴ با استفاده از کیت Rat IL-4 ELISA Kit, Elabscience® (Interleukin 4) در هر روش الایزا سنجش شد. برای سنجش اینترلوکین-۴ ابتدا رقیق‌سازی آنتی‌بادی‌های Capture Ab و Detection Ab، آنزیم Avidin-HRP و بافرهای رقیق‌سازی و کوت‌کننده (Coating buffers) و تهیه سریال رقت استاندارد طبق دستورالعمل کیت انجام شد سپس طی چند مرحله انکوباسیون و شستشو طبق دستورالعمل کیت با استفاده از دستگاه الایزا ریدر (Hyprion MicroReader 4-USA) در طول موج ۴۵۰ نانومتر OD نمونه‌ها قرائت شد. با استفاده از معادله منحنی استاندارد و OD رقت‌های مختلف استاندارد، غلظت اینترلوکین-۴ در هر رقت محاسبه شد.

**مدل آماری:** داده‌های آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی به کمک نرم‌افزار آماری SAS و رویه GLM تجزیه و تحلیل و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

#### نتایج و بحث

**فراسنجه‌های خونی:** مقدار پروتئین تام و مالون دی‌آلدئید (جدول ۱) در نمونه‌های پرتوتابی شده تفاوتی با نمونه شاهد نداشت ( $p > 0/05$ ). استفاده از سدیم فلوراید سبب افزایش معنی‌دار مقدار مالون دی‌آلدئید و آسیب گلبول‌های قرمز خون شد. استفاده از ۲ درصد گرده در جیره حاوی سدیم فلوراید سبب کاهش معنی‌دار مقدار مالون دی‌آلدئید شد ( $p < 0/05$ ). استفاده از سدیم فلوراید آنزیم کبیدی آلانین ترانسفراز را در خون افزایش و مقدار پروتئین کل خون را کاهش داد ( $p < 0/05$ ). استفاده از گرده در تیمار سدیم فلوراید سبب کاهش اثر سمی سدیم فلوراید شد. در این تیمار کاهش معنی‌دار در فعالیت آلانین ترانسفراز سرم خون و افزایش معنی‌دار کل پروتئین سرم خون شد ( $p < 0/05$ ).

فعالیت آلانین آمینو ترانسفراز سرم خون در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری داشت ( $p > 0/05$ ). ولی استفاده از گرده زنبورعسل سبب کاهش آلانین ترانسفراز سرم خون شد ( $p < 0/05$ ). دلیل کاهش آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز سرم خون کاهش سمیت سدیم فلوراید در حضور گرده زنبورعسل است. آنزیم آلانین ترانسفراز از آنزیم‌های کبیدی است و

**خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی:** برای مطالعه خواص ضد میکروبی گرده زنبورعسل از روش انتشار در چاهک و اندازه‌گیری قطر هاله ممانعت از رشد باکتری و قارچ استفاده شد (Hendra et al., 2011). برای این منظور ابتدا باکتری اشریشیاکلی (PTCC No:1330)، استافیلوکوکوس آئروس (PTCC No:1917) و قارچ *آسپرژیلوس فلاوس* (PTCC No:5018) از مرکز کلکسیون میکروارگانسیم‌های صنعتی ایران تهیه و پس از رشد در محیط کشت مایع NB، با سوآپ استریل در محیط کشت‌های اختصاصی EMB، BPA و PDA کشت چمنی داده شد. سپس، یک چاهک به قطر ۶ میلی‌متر ایجاد گردید و مقدار ۳۰۰ میکرولیتر از هر نمونه عصاره گرده پرتوتابی شده با دزهای مختلف درون چاهک‌ها ریخته شد، بعد از جذب کامل عصاره گرده، محیط کشت‌ها به انکوباتور (مدل SKIR-601L، کره) انتقال یافت و بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، قطر هاله ممانعت از رشد با استفاده از کولیس دیجیتالی اندازه‌گیری و ثبت شد.

برای سنجش خواص آنتی‌اکسیدانی گرده زنبورعسل ترکیبات فنلی، سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد و سنجش قدرت احیاکنندگی عصاره آبی گرده اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره آبی گرده ابتدا ۱ گرم نمونه گرده با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق با هم‌زن مغناطیسی مخلوط شد؛ سپس با استفاده از کاغذ صافی عصاره آبی از بخش جامد جدا شد. عصاره به دست آمده با دور  $12000 \times g$  سانتریفیوژ شد و مایع رویی برای انجام آزمایشات استفاده شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی، با استفاده از روش (Deshpande et al., 1986) انجام شد. به این منظور ۵۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های عصاره گرده با ۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالته و ۵۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۱۰ درصد وزنی/حجمی مخلوط گردید و به مدت یک ساعت در دمای اتاق و در مکان تاریک نگهداری شد و در نهایت جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. مقدار ترکیبات فنلی برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در هر میلی‌لیتر عصاره از روی معادله خط منحنی استاندارد تعیین گردید.

سنجش فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH با استفاده از روش (Hmidet et al., 2011) با اندکی تغییرات انجام شد. بر این اساس ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های عصاره گرده (دزهای صفر، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ کیلوگری) با ۵۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۹/۵ درصد و ۱۲۵ میکرولیتر محلول ۰/۰۲ درصد DPPH مخلوط شد و این مخلوط به مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق و در مکان تاریک نگهداری شد. سپس جذب مخلوط در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH حاصل تقسیم تفاضل جذب نمونه و شاهد بر جذب شاهد محاسبه شد. در نمونه شاهد به جای عصاره گرده از آب مقطر استفاده شد.

اندازه‌گیری قدرت احیاءکنندگی عصاره گرده زنبورعسل در احیای یون آهن با استفاده از روش (Bougatef et al., 2009) انجام شد. به این منظور ۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های

به واسطه Fc RI انجام می‌شود که نقش مهمی در فاز اولیه و انتهایی واکنش آلرژیک دارد.

**خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی:** نتایج خواص آنتی‌اکسیدانی گرده زنبورعسل پرتوتابی شده (جدول ۳) نشان داد که ترکیبات فنلی گرده زنبورعسل پرتوتابی شده به جز دز ۱۰ کیلوگری با گرده زنبورعسل پرتوتابی نشده تفاوت داشت ( $p > 0/05$ ). پرتوتابی سبب کاهش ۴۷ درصدی ترکیبات فنلی گرده زنبورعسل شد ( $p < 0/05$ ). قدرت احیاء‌کنندگی و فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد در نمونه‌های گرده پرتوتابی شده تفاوتی با گرده پرتوتابی نشده نداشت ( $p > 0/05$ ).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی گرده زنبورعسل مربوط به پپتیدهای دارای وزن مولکولی کم است. لی و همکاران (Li et al., 2010) فعالیت آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای با وزن مولکولی ۵۰۰ تا ۱۵۰۰ دالتون را گزارش کردند. یان و همکاران (Yan et al., 2015) گزارش کردند که پپتیدهای با وزن مولکولی ۱ تا ۳ کیلودالتون بیشترین قدرت مهار رادیکال‌های آزاد را دارند. اویسی‌پور و همکاران (Oveisi pour et al., 2009) گزارش کردند که بسته به وزن مولکولی، بار و ساختار فضایی زنجیره انتهایی پپتیدها قدرت به دام انداختن رادیکال‌های آزاد در آن‌ها افزایش می‌یابد. لسود و همکاران (Lassoued et al., 2015) گزارش کردند که طول زنجیره پپتیدها و توالی آمینواسیدها در عملکرد آن‌ها در احیای یون آهن مؤثر است. پپتیدهای حاوی آمینواسیدهای آروماتیک می‌توانند با دادن الکترون به رادیکال‌های آزاد سبب تبدیل آن‌ها به فرم پایدار شوند (Je et al., 2009). پپتیدهای حاوی اسیدآمینو هیستیدین با دادن هیدروژن و به دام انداختن رادیکال‌های پرکسیل سبب ایجاد فعالیت ضداکسایشی می‌شوند. همچنین حضور آمینواسیدهای گوگردار سبب ایجاد فعالیت ضداکسایشی و واکنش مستقیم با رادیکال‌های آزاد می‌شود (Jin et al., 2016).

نتایج سنجش خواص ضد میکروبی گرده پرتوفراوری شده (جدول ۳) نشان داد که پرتوتابی تأثیری بر خواص ضد میکروبی گرده زنبورعسل ندارد ( $p < 0/05$ ). طبق نتایج خواص ضد میکروبی گرده زنبورعسل بر باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی است. گرده زنبورعسل فعالیت ضد میکروبی بیشتری در برابر باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی و قارچ دارد. گرده زنبورعسل باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی را از بین می‌برد اما حساسیت باکتری‌های گرم مثبت به دلیل ماهیت لایه غشای سلولی نسبت به باکتری‌های گرم منفی بیشتر است. پپتیدهای گرده می‌توانند از طریق لایه پپتید و گلیکان غشای سلولی گرم مثبت با تلاش کمتری نسبت به باکتری‌های گرم منفی (که لایه‌ای از لیپوپلی‌ساکاریدها روی لایه پپتیدوگلیکان برای محافظت از غشای خود دارند) وارد شوند. بر این اساس، حساسیت باکتری‌های گرم مثبت به دلیل تفاوت در ساختار غشای سلولی نسبت به باکتری‌های گرم منفی بیشتر است و یک غشای پلاسمایی منفرد به باکتری‌های گرم مثبت متصل می‌شود در حالی که باکتری‌های گرم منفی توسط دو ساختار

حضور آن در سرم خون شاخص آسیب‌های کبدی است و معرف التهاب و نکروز بافت کبد است. آنزیم آلانین ترانسفراز در شرایط التهابی، به دلیل افزایش نفوذپذیری غشای سلول، به گردش خون آزاد می‌شود (Jimenez-Charris et al., 2021).

مقدار کاتیون‌های خون (جدول ۲) در گروه سدیم فلوراید تفاوت معنی‌دار داشت. افزایش سطح سدیم و پتاسیم کاهش قابل توجه فسفر در گروه سدیم فلوراید مشاهده شد. استفاده از گرده زنبورعسل سطح کاتیون‌ها را در تیمار گرده نسبت به تیمار بدون گرده بهبود بخشید ( $p < 0/05$ ).

فلاونوئیدهای گرده دارای اثرات ضدالتهاب است و مصرف گرده سبب کاهش سطح اکسیداسیون لیپید در گلبول‌های قرمز در موش‌ها شد (Dudov & Starodub, 1994).

**خواص ضدالتهابی و ضدحساسیت:** طبق نتایج تست الیزا غلظت اینترلوکین-۴ سرم خون در تیمارهای حاوی گرده نسبت به تیمارهای بدون گرده کمتر بود ( $p < 0/05$ ). غلظت اینترلوکین-۴ سرم خون در تیمارهای گرده خام و پرتوفراوری شده با دز ۲۵ کیلوگری تفاوت معنی‌دار نداشت ( $p > 0/05$ ). اینترلوکین-۴ در پاسخ‌های ایمنی در آلرژی‌ها و حساسیت‌ها نقش دارد و مقدار آن در افرادی که آلرژی دارند افزایش می‌یابد. گرده زنبورعسل با تأثیر بر فعالیت مست‌سل‌ها سبب کاهش ترشح اینترلوکین-۴ می‌شود (Yasuko et al., 2008).

فلاونوئیدهای گرده زنبورعسل دارای فعالیت تعدیل‌کنندگی ایمنی<sup>۱</sup> است (Dudov et al., 1994). گزارش شده است که ترکیبات محلول در چربی عصاره گرده مسئول مهار بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها و لکوترین‌ها است (Loschen & Ebeling, 1991).

نتایج مطالعات اثر بازدارندگی فلاونوئیدها بر روی ماست‌سل و علائم آلرژیک نشان داده است (Middleton, 1998). فعال شدن ماست‌سل‌ها با اتصال FC گیرنده‌های ایمونوگلوبولین E (FC&RI) توسط آنتی‌ژن‌های چند ظرفیتی نقش مهمی در واکنش‌های آلرژیک با ترشح واسطه‌های ذخیره شده در گرانول‌ها دارد. استفاده از گرده سبب مهار بیماری‌های التهابی که مست‌سل‌ها را درگیر می‌کند، مانند آلرژی، آرتیت و درد مزمن لگنی می‌شود (Theoharides & Bielory, 2004). یاسوکو و همکاران (Yasuko et al., 2008) گزارش کردند که استفاده از گرده زنبورعسل در جیره غذایی موش به طور قابل‌توجهی باعث کاهش فعال‌شدن مست‌سل‌های پوستی ناشی از IgE و آنتی‌ژن‌های خاص می‌شود. گرده زنبورعسل همچنین با مهار اتصال IgE به Fc RI، گرانولاسیون مست‌سل و تولید فاکتور نکروز تومور را کاهش داد. روی مست‌سل‌ها اثر مهارتی گرده زنبورعسل بر دگرانولاسیون مست‌سل با جلوگیری از اتصال IgE با کاهش تأیید شد. سطوح پروتئین تیروزین فسفوریلاسیون، که به‌عنوان رویدادهای پایین‌دست در ماست‌سل‌های فعال از طریق Fc RI رخ داده است. این نتایج نشان داد که اثر ضد آلرژیک گرده زنبورعسل با مهار فعال‌سازی مست‌سل

گرده رومانی در مقایسه با گرده ترکیه به دلیل محتوای فنولیک بالاتر فعالیت ضد میکروبی بیشتری داشت.

**جمعیت میکروبی روده:** شمارش کلی باکتری‌های روده (جدول ۴) در تیمارهای گرده کمتر از تیمار بدون گرده بود. استفاده از گرده سبب کاهش جمعیت باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی روده شد ( $p < 0.05$ ). کاهش جمعیت باکتری‌های روده می‌تواند به دلیل اثرات ضد میکروبی گرده و یا تغییرات در مورفولوژی دیواره روده باشد. تغییرات مورفولوژی دیواره روده در اتصال و استقرار باکتری‌ها نقش دارد و از تخریب و آسیب سلول‌های اپیتلیال روده جلوگیری می‌کند (Toman *et al.*, 2015).

**بافت‌شناسی:** نتایج بافت‌شناسی نشان داد که جیره حاوی گرده خام و گرده زنبورعسل پرتوتابی شده سبب کاهش آسیب‌های سدیم فلوراید شامل خونریزی بیضه‌ها و دستگاه گوارش، پرخونی و تورم هیپاتوسیت‌ها و آسیب‌های کلیوی شد (شکل ۱ و ۲). مشخصه‌های مورفولوژیکی روده موش‌های تغذیه شده با گرده (جدول ۵) تفاوت معنی‌دار با موش‌های تغذیه شده با جیره بدون گرده داشت ( $p < 0.05$ ). در گروه آزمایشی گرده خام و گرده پرتوفراوری شده نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت و ارتفاع پرز در دندوم، ژژنوم و ایلئوم افزایش یافت ( $p < 0.05$ ). جیره‌های حاوی سدیم فلوراید سبب کاهش طول پرز و عمق کریپت در طول روده شد ولی درصد کاهش در جیره‌های حاوی گرده کمتر بود. مشخصه‌های مورفولوژیکی روده موش‌های تغذیه شده با گرده خام و گرده پرتوفراوری شده تفاوت معنی‌دار داشت ( $p < 0.05$ ). در دندوم و ژژنوم تأثیر گرده خام بیشتر بود ولی در ایلئوم گرده پرتوفراوری شده سبب طول پرز بیشتر شد ولی عمق کریپت ایلئومی تفاوتی نداشت ( $p > 0.05$ ). استفاده از گرده سبب افزایش حجم نسبی اپیتلیوم و کاهش بافت همبند ژژنوم شد و طول پرز و عمق کریپت ژژنوم افزایش پیدا کرد. این نتایج اثر محرک رشد گرده برای پرزهای روده را نشان می‌دهد. استفاده از گرده سبب افزایش ارتفاع پرز و عمق کریپت روده موش‌های مورد آزمایش شد. افزایش ارتفاع پرز و نسبت ارتفاع پرز و عمق کریپت روده در میزان جذب مواد مغذی و افزایش کارایی و عملکرد روده مؤثر است (Toman *et al.*, 2015). پرتوفراوری گرده نه تنها این خاصیت گرده را تغییر نداد بلکه در مواردی مثل طول پرز ایلئومی سبب عملکرد بهتر دستگاه گوارش شد.

غشایی (غشای داخلی و خارجی) متصل می‌شوند که ترکیبات متفاوتی را نشان می‌دهند.

گر و همکاران (Gur *et al.*, 2001) با مطالعه خواص ضد میکروبی نمونه‌های گرده با استفاده از روش دیسک، بیان کردند قارچ نسبت به نمونه‌های مختلف گرده کاملاً مقاوم است ارکمن و ازکان (Erkmen & Ozcan, 2008) گزارش کردند گرده زنبورعسل هیچ اثر ضد میکروبی بر روی باکتری‌ها و قارچ‌های مورد آزمایش نداشت. فرچوشرمکوا و همکاران (Fatrcova-Šramkova *et al.*, 2013) در بررسی خواص ضد میکروبی عصاره گرده زنبورعسل با استفاده از روش چاهک‌گذاری بیان کردند باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی حساسیت بیشتری به گرده زنبورعسل نشان دادند. خیدر و همکاران (Khider *et al.*, 2013) در بررسی خواص ضدباکتریایی نمونه‌های گرده زنبورعسل با استفاده از روش چاهک‌گذاری گزارش کردند، نمونه‌های گرده فعالیت ضدباکتری را نشان داد. آوسار و همکاران (Avsar *et al.*, 2016) در بررسی خواص ضد میکروبی عصاره گرده شاه‌بلوط با استفاده از روش دیسک دیفیوژن گزارش کردند، عصاره گرده در برابر باکتری‌های گرم مثبت مؤثرتر از باکتری‌های گرم منفی بود و همچنین عصاره گرده دارای فعالیت ضد مخمری متوسطی بود. باکتری‌های گرم منفی به دلیل تفاوت در ساختار دیواره سلولی نسبت به باکتری‌های گرم مثبت و مخمرها به عصاره گرده مقاوم‌تر است. لایه لیپولی ساکارید باکتری‌های گرم منفی در غشای خارجی دارای سد نفوذپذیر قوی برای بسیاری از مواد فیتوشیمیایی است. کردل و همکاران (Karadal *et al.*, 2018) در بررسی خواص ضدباکتریایی گرده زنبورعسل با استفاده از روش چاهک‌گذاری گزارش کردند، نمونه‌های گرده اثرات ضدباکتریایی را تنها روی باکتری‌های گرم مثبت نشان داد. فعالیت ضدباکتریایی عصاره گرده به محتوی بالای ترکیبات فنولیک گرده نسبت داده می‌شود. کاسکانین و همکاران (Kaškonienė *et al.*, 2020) در بررسی خواص ضد میکروبی گرده زنبورعسل با استفاده از روش چاهک‌گذاری گزارش کردند، *E. coli* بیشترین مقاومت به عصاره گرده زنبورعسل را نشان داد. مارگائو و همکاران (Margaoan *et al.*, 2021) با مطالعه خواص ضد میکروبی عصاره گرده رومانی و ترکیه گزارش کردند بیشترین حساسیت مربوط به باکتری‌های گرم مثبت و بیشترین مقاومت مربوط به باکتری‌های گرم منفی بود علاوه بر این،

جدول ۱- مقدار پروتئین پروتئین تام، آلانین آمینوترانسفراز، مالون دی آلدئید، اینترلوکین-۴ سرم خون

Table 1. Serum total protein, alanine aminotransferase, malondialdehyde, IL-4

اینترلوکین-۴ (Pg/ml) IL-4 (Pg/ml)	مالون دی آلدئید (nmol/ml) Malondialdehyde (nmol/ml)	آلانین ترانسفراز (U/L) alanine aminotransferase (U/L)	پروتئین تام Total protein(µg/ml)	تیمار (Treatment)
36.17 <sup>b</sup>	0.025 <sup>c</sup>	29.77 <sup>d</sup>	2.29 <sup>c</sup>	بدون گرده Without pollen
38.58 <sup>a</sup>	0.064 <sup>a</sup>	69.47 <sup>a</sup>	5.24 <sup>a</sup>	بدون گرده+SF Without pollen+SF
32.84 <sup>d</sup>	0.018 <sup>d</sup>	22.82 <sup>c</sup>	2.62 <sup>c</sup>	گرده خام Raw Pollen
34.27 <sup>c</sup>	0.038 <sup>b</sup>	41.99 <sup>b</sup>	3.27 <sup>b</sup>	گرده خام+SF Raw Pollen+SF
31.17 <sup>d</sup>	0.022 <sup>c</sup>	22.07 <sup>c</sup>	2.45 <sup>c</sup>	گرده پرتوفاوری شده Irradiated Pollen
33.29 <sup>c</sup>	0.042 <sup>b</sup>	42.67 <sup>b</sup>	3.44 <sup>b</sup>	گرده پرتوفاوری شده+SF Irradiated Pollen+SF
1.814	0.0045	4.652	2.325	اِشْتِیَاه مَعِیَار (SEM)

درج حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

Means in the same column with different letters differ ( $p < 0.05$ ).

جدول ۲- مقادیر فسفر و کاتیون های سرم خون موش های تغذیه شده با گرده زنبورعسل

Table 2. Amounts of phosphorus and cations in blood serum of rats fed with bee pollen

فسفر (mg/L) phosphorus	پتاسیم (mmol/l) potassium	سدیم (mmol/l) sodium	تیمار
354.32 <sup>b</sup>	253.72 <sup>c</sup>	146.21 <sup>b</sup>	بدون گرده Without pollen
324.13 <sup>c</sup>	265.43 <sup>b</sup>	166.83 <sup>a</sup>	بدون گرده+SF Without pollen+SF
	191.46 <sup>d</sup>	139.33 <sup>c</sup>	گرده خام Raw Pollen
268.34 <sup>d</sup>	280.71 <sup>a</sup>	158.31 <sup>a</sup>	گرده خام+SF Raw Pollen+SF
355.44 <sup>b</sup>	255.21 <sup>c</sup>	148.82 <sup>b</sup>	گرده پرتوفاوری شده Irradiated Pollen
325.57 <sup>c</sup>	267.96 <sup>b</sup>	168.23 <sup>a</sup>	گرده پرتوفاوری شده+SF Irradiated Pollen+SF
4.328	3.754	2.532	اِشْتِیَاه مَعِیَار (SEM)

درج حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

Means in the same column with different letters differ ( $P < 0.05$ ).

جدول ۳- خواص آنتی اکسیدانی و ضد میکروبی گرده زنبورعسل قبل و بعد از پرتوتابی

Table 3. Antioxidant and antimicrobial properties of bee pollen before and after irradiation

اِشْتِیَاه مَعِیَار SEM	۲۵ کیلوگری 25KGy	۰ کیلوگری 0KGy	خواص گرده properties of pollen
0.527	1.92 <sup>b</sup>	3.67 <sup>a</sup>	ترکیبات فنلی (µg/ml) Phenolic compounds(µg/ml)
3.172	64.14	65.32	فعالیت مهارکنندگی (درصد) Inhibitory activity (%)
0.0452	0.243	0.245	قدرت احیاءکنندگی (جذب ۷۰۰ نانومتر) Reducer power(Abs.700 nm)
3.452	10.12	11.11	قطر هاله ایشیریشیا کولای (میلی متر) Halo diameter- E. Coli (mm)
3.218	25.75	26.98	قطر هاله استافیلوکوکوس آرتوس (میلی متر) Halo diameter-S.aureus (mm)
1.312	24.53	24.68	قطر هاله اسپیریلوس فلاووس (میلی متر) Halo diameter-A.flavus aureus(mm)

درج حروف متفاوت در هر ردیف بیانگر وجود تفاوت معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

Means in the same row with different letters differ ( $p < 0.05$ ).

جدول ۴- شمارش کلی و جمعیت باکتری های روده موش های تغذیه شده با گرده (log CFU/gr)

Table 4. Total Count and intestinal bacteria population of rats fed with pollen (log CFU/gr)

بیفیدوباکتر Bifidobacterium	لاکتوباسیل Lactobacillus	کلی فرم Coliform	شمارش کلی باکتری Total bacterial count	تیمار Treatments
5.28 <sup>a</sup>	5.12 <sup>a</sup>	4.23 <sup>a</sup>	7.68 <sup>a</sup>	بدون گرده Without pollen
4.14 <sup>b</sup>	4.48 <sup>b</sup>	2.92 <sup>b</sup>	6.42 <sup>b</sup>	گرده خام Raw Pollen
4.32 <sup>b</sup>	4.62 <sup>b</sup>	3.17 <sup>b</sup>	6.76 <sup>b</sup>	گرده پرتوفاوری شده Irradiated Pollen
0.521	0.285	0.362	0.125	اِشْتِیَاه مَعِیَار (SEM)

درج حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی دار است ( $p < 0.05$ ).

Means in the same column with different letters differ ( $p < 0.05$ ).



جدول ۵- مشخصه‌های مورفولوژیکی روده موش‌های تغذیه شده با گرده زنبورعسل (میکرومتر)

Table 5. Morphological characteristics of the intestines of rats fed with bee pollen (micrometers)

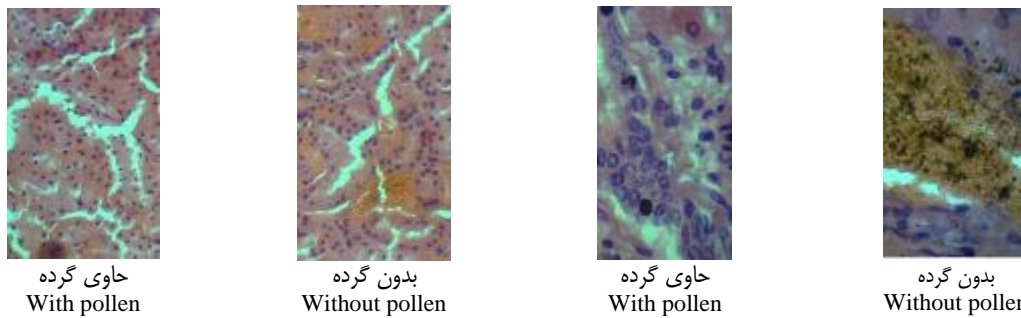
ایلیوم Ileum		زژنوم Jejunum		دودنوم Duodenum		تیمار Treatments
عمق کریپت Crypt depth	طول پرز Pile length	عمق کریپت Crypt depth	طول پرز Pile length	عمق کریپت Crypt depth	طول پرز Pile length	
106.32 <sup>d</sup>	175.53 <sup>e</sup>	122.82 <sup>e</sup>	323.73 <sup>d</sup>	144.21 <sup>e</sup>	363.18 <sup>e</sup>	بدون گرده Without pollen
107.29 <sup>d</sup>	168.31 <sup>f</sup>	119.36 <sup>e</sup>	278.38 <sup>e</sup>	124.11 <sup>f</sup>	305.15 <sup>f</sup>	بدون گرده+SF Without pollen+SF
197.35 <sup>a</sup>	254.68 <sup>b</sup>	192.42 <sup>a</sup>	538.35 <sup>a</sup>	242.52 <sup>a</sup>	652.61 <sup>a</sup>	گرده خام Raw Pollen
154.82 <sup>c</sup>	218.53 <sup>c</sup>	164.37 <sup>c</sup>	428.72 <sup>c</sup>	192.71 <sup>c</sup>	510.48 <sup>c</sup>	گرده خام+SF Raw Pollen+SF
192.13 <sup>a</sup>	286.91 <sup>a</sup>	182.76 <sup>b</sup>	486.82 <sup>b</sup>	224.38 <sup>b</sup>	589.52 <sup>b</sup>	گرده پرتوفاوری شده Irradiated Pollen
173.14 <sup>b</sup>	205.84 <sup>d</sup>	135.57 <sup>d</sup>	425.27 <sup>c</sup>	182.25 <sup>d</sup>	482.43 <sup>d</sup>	گرده پرتوفاوری شده+SF Irradiated Pollen+SF
5.625	6.376	2.892	9.243	4.168	9.365	اشتباه معیار SEM

درج حروف متفاوت در هر ستون بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار است (P<0.05).

Means in the same column with different letters differ (P<0.05).



شکل ۱- بافت بیضه (چپ) و روده (راست) موش‌های دریافت کننده جیره حاوی سدیم فلوراید با و بدون گرده زنبورعسل  
Figure 1. Testicular and intestinal tissue of rats receiving diet containing sodium fluoride with and without bee pollen



شکل ۲- بافت کبد (راست) و کلیه (چپ) موش‌های دریافت کننده جیره حاوی سدیم فلوراید با و بدون گرده زنبورعسل  
Figure 2. Liver and kidney tissue of rats receiving diet containing sodium fluoride with and without bee pollen

زنبورعسل می‌توان برای پرتوفاوری گرده زنبورعسل استفاده کرد.

**نتیجه‌گیری کلی**  
با توجه به نتایج این پژوهش از دز ۲۵ کیلوگری پرتو گاما بدون اثرات منفی بر خواص ترکیبات زیست فعال گرده

## References

- Avsar, C., Özler, H., Berber, I., & C'IVek, S. (2016). Phenolic Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Castanea sativa* Mill. Pollen Grains from Black Sea Region of Turkey. *International Food Research Journal*, 23, 1711–1716. <http://www.ifrj.upm.edu.my>
- Bougatef, A., Hajji, M., Balti, R., Lassoued, I., Triki-Ellouz, Y., & Nasri, M. (2009). Antioxidant and free radical-scavenging activities of smooth hound (*Mustelus mustelus*) muscle protein hydrolysates obtained by gastrointestinal proteases. *Food Chemistry*, 114, 1198–1205. DOI: 10.1016/j.foodchem.2008.10.075
- Deshpande, S. S., Chryan, M., & Salunkhe, D. K. (1986). Tanin analysis of food products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 24, 401- 449. DOI: 10.1080/10408398609527441

- Dudov, I. A., Morenets, A. A., Artiukh, V. P., & Starodub, N. F. (1994). Immunomodulatory effect of honeybee flower pollen load. *Ukrainskii Biokhimičeskii Zhurnal*, 66(6), 91–93. PMID: 7785092.
- Dudov, I. A., & Starodub, N. F. (1994). Antioxidant system of rat erythrocytes under conditions of prolonged intake of honeybee flower pollen load. *Ukrainskii Biokhimičeskii Zhurnal* 66, 94–96. PMID: 7785093
- Erkmen, O., & Ozcan, M. (2008). Antibacterial effects of Turkish propolis, pollen and laurel on the spoilage and pathogenic food-related microorganisms. *Journal of Medicine Food*, 11, 587-592. DOI: 10.1089/jmf.2007.0038
- Fatrcova-Šramkova, K., Nožkova, J., Kacaniova, M., Mariassyova, M., Rovna, K., & Stricik, M. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health*, 48, 133–138. DOI: 10.1080/03601234.2013.727664
- Gur, N., Digrak, M., Cobanoglu, D., & Dilsiz, N. (2001). Melitopalynological and Antimicrobial Properties of Honeys From Elazig. *Acta Botanica Hungarica*, 43(3–4), 311–317. <https://doi.org/10.1556/ABot.43.2001.3-4.7>
- Hendra, R., Ahmad, S., Sukari, A., Yunus Shukor, M., & Oskoueian, E. (2011). Flavonoid Analyses and Antimicrobial Activity of Various Parts of Phaleria macrocarpa (Scheff.) Boerl Fruit. *International Journal of Molecular Sciences*, 12, 3422-3431. DOI: 10.3390/ijms12063422
- Hmidet, N., Balti, R., Nasri, R., Sila, A., Bougatef, A., & Nasri, M. (2011). Improvement of functional properties and antioxidant activities of cuttlefish (*Sepia officinalis*) muscle proteins hydrolyzed by *Bacillus mojavensis* A21 proteases. *Food Research International*, 44, 2703-2711. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.05.023
- Je, J. Y., Lee, M. H., Lee, K. h., & Ahn, C. B. (2009). Antioxidant and hypertensive protein hydrolysates produced from tuna liver by enzymatic hydrolysis. *Food Research International*, 42, 1266-1272. DOI: 10.1016/j.foodres.2009.06.013
- Jimenez-Charris, E., Gonzalez-Duque, D., Moreno, M. C., Solano-Redondo, L. M.-G., A. Montealegre-Sanchez, L. , & Buritica, E. (2021). Evaluation of the systemic alterations triggers by *Porthidium lansbergii lansbergii* snake venom. *Acta Tropica*, 222, 106047. DOI: 10.1016/j.actatropica.2021.106047
- Jin, D. X., Liu, X., Zheng, X., Wang, X., & He, J. (2016). Preparation of antioxidative corn protein hydrolysates, purification and evaluation of three novel corn antioxidant peptides. *Food Chemistry*, 204, 427-436. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.02.119
- Karadal, F., Onmaz, N. E., Abay, S., Yildirim, Y., Al, S., Tatyuz, I., & Akcay, A. (2018). A Study of Antibacterial and Antioxidant Activities of Bee Products: Propolis, Pollen and Honey Samples. *The Ethiopian Journal of Health Development*, 32, 116–122. <http://ejhd.org/index.php/ejhd/article/view/2333>
- Kaškonienė, V., Adaškevičiūtė, V., Kaškonas, P., Mickienė, R., & Maruška, A. (2020). Antimicrobial and antioxidant activities of natural and fermented bee pollen. *Food Bioscience*, 34, 1-9. DOI: 10.1016/j.fbio.2020.100532
- Katarina, F. R., Janka, N. K., Magda, M., & Miroslava, K. A. (2016). Biologically active antimicrobial and antioxidant substances in the *Helianthus annuus* L. bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health*, 51(3), 176–181. DOI: 10.1080/03601234.2015.1108811
- Khalil, F., & El-Sheikh, N. M. (2010). The effects of dietary Egyptian propolis and bee pollen supplementation against toxicity of sodium fluoride in rats. *Veterinary Medical Journal Giza*, 58, 163-175. DOI: 10.7537/marsjas061110.37
- Khider, M., Elbanna, K., Mahmoud, A., & Owayss, A. A. (2013). Egyptian honeybee pollen as antimicrobial, antioxidant agents, and dietary food supplements. *Food Science and Biotechnology*, 22, 1-9. <https://doi.org/10.1007/s10068-013-0238-y>
- Lassoued, I., Mora, L., Barkia, A., Aristoy, M. C., Nasri, M., & Toldra, F. (2015). Bioactive peptides identified in thornback ray skin's gelatin hydrolysates by proteases from *Bacillus subtilis* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Journal of Proteomics*, 128, 8–17. DOI: 10.1016/j.jprot.2015.06.016
- Li, Y. W., Li, B., He, J., & Qian, P. (2010). Structure-activity relationship study of antioxidative peptides by QSAR modeling: the amino acid next to C-terminus affects the activity. *Journal of Peptide Science*, 17, 454–462. <https://doi.org/10.1002/psc.1345>
- Loschen, G., & Ebeling, L. (1991). Inhibition of the arachidonic acid metabolism by an extract from rye pollen. *Arzneim-Forsch./Drug Research*, 41, 162-167. PMID: 1904229.
- Margaoan, R., Ozkok, A., Keskin, S., Mayda, N., Urcan, A. C., & Cornea-Cipcigan, M. (2021). Bee collected pollen as a value-added product rich in bioactive compounds and unsaturated fatty acids: A comparative study from Turkey and Romania. *Food Science and Technology*, 149, 1-11. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111925
- Middleton, E. Jr. (1998). Effect of plant flavonoids on immune and inflammatory cell function. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 439, 175–182. DOI: 10.1007/978-1-4615-5335-9\_13
- Oveisi pour, M., Abedian, A. M., Motamedzadegan, A., Rasco, B., Safari, R., & Shahiri, H. (2009). The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from the Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera. *Food Chemistry*, 115, 238–242. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.013>

- Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey Jr, G. C. (1993). AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *The Journal of Nutrition*, 123(11), 1939-1951. <https://doi.org/10.1093/jn/123.11.1939>
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2016). *Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology (7th Ed.)*. Wolters Kluwer.
- Sadeghi, A. A., Shawrang, P., & Aminafshar, M. (2011). *Analysis of Biological Components. 1th edn.* Islamic Azad University Science and Research Branch Publications.
- Theoharides, T. C., & Bielory, L. (2004). Mast cells and mast cell mediators as targets of dietary supplements. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 93(2), S24-S34. DOI: 10.1016/s1081-1206(10)61484-6
- Toman, R., Zuzana, H., & Svatoslav, H. (2015). Changes in Intestinal Morphology of Rats Fed with Different Levels of Bee Pollen. *Pharmacognosy Communications*, 5(4), 261-264. DOI: 10.5530/pc.2015.4.8
- Yan, Q. J., Huang, L. H., Sun, Q., Jiang, Z. Q., & Wu, X. (2015). Isolation, identification and synthesis of four novel antioxidant peptides from rice residue protein hydrolysed by multiple proteases. *Food Chemistry*, 179, 290-295. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.137>
- Ishikawa, Y., Tokura, T., Nakano, N., Hara, M., Niyonsaba, F., Ushio, H., ... & Ogawa, H. (2008). Inhibitory effect of honeybee-collected pollen on mast cell degranulation in vivo and in vitro. *Journal of Medicinal Food*, 11(1), 14-20. DOI: 10.1089/jmf.2006.163