JAER

2026, 2(1): 107-114

Journal of Animal Environmental Reaserch

Journal homepage: http://www.journalaer.com

Research Article

Investigating the antifungal effects ofhoney royal jellyin form nano and raw on *Aspergillus flavus*

Elham Rezvannejad [1*], Maryam Fayazi [2], Batool Sadeghi [3]

[1] Department of Biotechnology, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

[2] Department of Environment, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, Iran

[3] Department of Medical Plant, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran

Key Words

Low-risk drug
Inhibitory effects
Aspergillus flavus
Honey bee
Nanocomposite

Abstract

Introduction: Due to the increasing resistance of pathogenic bacteria and fungi to common antibiotics, it is important to find natural antimicrobial agents as alternative drugs. Aspergillus flavus is one of the most important fungi producing aflatoxin. In this research, the antifungal effects of royal jelly and its nanocomposite derivatives on Aspergillus flavus were studied.

Materials & Methods: To carry out this research, royal jelly sample was collected from bee farm in Kerman province and extracted in the laboratory. Then, Aspergillus flavus was cultured in a special environment and was affected by different dilutions of royal jelly extracts, sepiolite/royal jelly nanocomposites, and sepiolite/silver nitrate/royal jelly. Finally, the MIC and MFC of the samples and disk diffusion tests were determined. The obtained data were analyzed by SAS 9.1 software.

Result: The results of this research showed that although extracts of royal jelly and its nano compounds had less antifungal properties compared to the antibiotic used against Aspergillus flavus ($P<0.01$). But they have had a significant effect on the inhibition and lethality of Aspergillus flavus. So that royal jelly in crude form and nanocomposite at a concentration of 400mg/ml had inhibitory and lethal properties on the target fungus. Also, the sepiolite/silver nitrate/royal jelly nanocomposite extract had slightly but significantly more antifungal effect than the crude extract ($P<0.01$).

Conclusion: Therefore, it can be seen that royal jelly can be used as a natural antifungal, especially in nano form.

Article info

* Corresponding Author's email: e.rezvannejad@kgut.ac.ir

Received: 22 June 2025
Reviewed: 27 July 2025
Revised: 29 September 2025
Accepted: 31 October 2025

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]

مقاله علمی - پژوهشی

بررسی اثرات ضدقارچی فرم نانو و خام ژل رویال زنبورعسل بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس (*Aspergillus flavus*)

الهام رضوان‌نژاد[۱*]، مریم فیاضی[۲]، بتول صادقی[۳]

[۱] گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
[۲] گروه محیط‌زیست، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ایران
[۳] گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

کلمات کلیدی

داروی کم خطر
اثرات مهارکنندگی
آسپرژیلوس فلاووس
زنبورعسل
نانوذرات

چکیده

مقدمه: به‌دلیل مقاومت روزافزون باکتری‌ها و قارچ‌های بیماری‌زا به آنتی‌بیوتیک‌های رایج، یافتن عوامل ضدمیکروبی طبیعی به‌عنوان داروهای جایگزین اهمیت دارد، از آن‌جاکه قارچ آسپرژیلوس فلاووس یکی از قارچ‌های مهم مولد تولید آفلاتوکسین می‌باشد. در این تحقیق اثرات ضدقارچی ژل رویال زنبورعسل و مشتقات نانوکامپوزیت آن بر روی قارچ *Aspergillus flavus* مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: برای انجام این تحقیق نمونه ژل رویال از زنبورستان‌های استان کرمان جمع‌آوری‌شده و در آزمایشگاه عصاره‌گیری به‌عمل آمد. سپس قارچ *Aspergillus flavus* در محیط اختصاصی کشت داده شده و تحت تاثیر رقت‌های مختلف عصاره‌های ژل رویال، نانوکامپوزیت‌های سپیولایت/ژل رویال و سپیولایت/ نیترات نقره/ ژل رویال قرار گرفت. درنهایت MIC و MFC نمونه‌ها توسط تست‌دیسک دیفوژن‌وچاهک پلیت تعیین گردید. اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم‌افزارSAS موردتجزیه وتحلیل‌قرار گرفت.

نتایج: نتایج این تحقیق نشان داد که اگرچه عصاره‌های ژل رویال و ترکیبات نانوی آن در مقایسه با آنتی‌بیوتیک مورد استفاده بر علیه قارچ آسپرژیلوس فلاووس داری خاصیت ضدقارچی کم‌تری بودند ($P<0/01$). اما تاثیر معنی‌داری بر میزان مهار و کشندگی قارچ آسپرژیلووس‌فلاووس داشته‌اند. به‌طوری‌که ژل رویال به‌صورت بالک و نانوکامپوزیت در غلظت ٤۰۰mg/ml دارای خاصیت مهار و کشندگی بر روی قارچ مورد نظر بودند. هم‌چنین عصاره نانوکامپوزیت سپیولایت/ نیترات نقره/ ژل رویال به‌میزان ناچیز اما معنی‌داری اثر ضدقارچی بیش‌تری نسبت به عصاره خام داشت ($P<0/01$).

بحث و نتیجه‌گیری: بنابراین می‌توان دریافت که ژل رویال می‌تواند به‌عنوان یک ضدقارچ طبیعی به‌خصوص در فرم نانو مورد استفاده قرار گیرد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
e.rezvannejad@kgut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱ تیر ۱٤۰٤
تاریخ داوری: ۵ مرداد ۱٤۰٤
تاریخ اصلاح: ۷ مهر ۱٤۰٤
تاریخ پذیرش: ۹ آبان ۱٤۰٤

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]

مقدمه

آسپرژیلوسیک سرده شامل چندصد گونه از کپک است که در اقلیم‌های متنوع آب و هوایی در سرتاسر جهان یافت می‌شود (۱). برخی گونه‌های آن بیماری‌زا و برخی دیگر دارای کاربرد صنعتی و غذایی می‌باشند. آسپرژیلوس فلاووس، آسپرژیلوس پارازیتیکوس و آسپرژیلوس فومیگاتوس گونه‌های بیماری‌زا بوده و آسپرژیلوس نایجر و آسپرژیلوس اورایزا گونه‌های مفید آن هستند. مایکوتوکسین‌ها یا سموم قارچی ترکیبات ثانویه متابولیکی هستند که توسط کپک‌ها ساخته‌شده و دارای خواص سمی می‌باشند. متابولیت‌های اولیه (مانند اسیدهای آمینه، استات، پیرووات،...) ترکیباتی هستند که برای رشد قارچ‌ها ضروری می‌باشند، اما متابولیت‌های ثانویه که در انتهای فاز رشد به‌هنگام تجمع متابولیت‌های اولیه تولید می‌شوند، تأثیر چندانی بر روی رشد قارچ‌ها ندارند (۲، ۳، ۴، ۵). اگرچه کپک‌ها قادر به رشد و تولید سم در بسیاری از مواد غذایی و در شرایط مختلف رطوبت، pH و دما می‌باشند، اما معمولاً در مواد غذایی که تحت‌شرایط گرم و مرطوب نگه‌داری می‌شوند، بهتر رشد می‌کنند. بیماری به‌وجودآمده در نتیجه مصرف سموم قارچی، مایکوتوکسیکوز نامیده می‌شود. آسپرژیلوس فلاووس *A. flavus* ازجمله کپک هایی است که از نظر مسمومیت غذایی اهمیت ویژه‌ای داشته و قادر به تولید مایکوتوکسینی به‌نام آفلاتوکسین می‌باشد (۲، ۳، ۴، ۵). آسپرژیلوس تمایل زیادی به دانه‌های خوراکی و دانه‌های روغنی دارد. دانه‌های روغنی، برای رشد آسپرژیلوس مستعد می‌باشند. در دانه‌های صدمه دیده (صدمه مکانیکی در حین برداشت و یا صدمه وارده توسط حشرات) رشد کپک‌ها آسان‌تر می‌باشد. محیط گرم و مرطوب نیز رشد کپک‌ها را تسریع می‌کند. غلات مانند ذرت، جو، گندم و برنج، دانه‌های روغنی و روغن های آن ها مانند بادام‌زمینی، سویا، پنبه و آفتابگردان، ادویه‌ها مانند فلفل و زردچوبه، دانه‌های درختی مانند پسته، بادام و گردو، میوه‌های خشک مانند انجیر و دیگر مواد خوراکی مانند حبوبات و شیر ازجمله مواد غذایی هستند که تاکنون آفلاتوکسین از آن‌ها جدا شده است (۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸). ظهور گونه های قارچی مقاوم و نیز عوارض زیاد داروهای ضدقارچی محققین را به کشف روش‌های جدید ضدقارچی وادار کرده است (۹). داروهای طبیعی به علت داشتن منشا طبیعی نسبت به داروهای شیمیایی دارای سازگاری بیش‌تری با ارگانیسم‌های زنده از جمله بدن انسان هستند (۱۰). استفاده از عصاره آن‌ها به‌دلیل عدم عوارض جانبی در دسترس بودن آن‌ها و هم‌چنین عدم اثرات سو نسبتاً پایین آن‌ها در حال گسترش است (۱۱). زنبورعسل یکی از حشرات مفید برای انسان است که متعلق به راسته بال غشائیان Hymenoptera خانواده Apidae و گونه *Apis mellifera* است (۱۲). زنبورعسل تولیدات زیادی دارد که عبارتند از: عسل، عسلک، گرده، بره‌موم، ژل رویال، موم و زهر زنبور. ژل رویال یا شاهانه ماده‌ای است که به‌وسیله یک جفت غده مغزی کارگران در سنین اول زندگی ترشح شده و برای تغذیه نوزادان جوان و ملکه به‌کار می‌رود. ژل شاهانه غذای مخصوص ملکه و تنها غذای وی از اولین روز تولد تا آخر عمرش است. ژل رویال دارای اکثر اسیدهای آمینه و تمام ویتامین‌ها است و دارای مصارف پزشکی زیادی بوده و از نظر ارزش چندین برابر قیمت عسل و اکثرا در بازارهای جهانی به‌صورت آمپول، کپسول و هم‌چنین به‌صورت شربت عرضه می‌شود (۱۲). مطالعات زیادی در رابطه با اثرات ضدقارچی و ضدباکتری محصولات زنبورعسل تاکنون انجام‌شده است و اثرات آن‌ها تایید شده است (۱۳). هم چنین دانشمندان علم فیزیک بر این باورند که بسیاری از خواص فیزیکی ماده ارتباط تنگاتنگی با آرایش اتم‌ها و ساختار اتمی ترکیب شیمیایی و اندازه یک ماده جامد در یک، دو و یا سه بعد دارد. بدیهی است با پذیرش چنین اصلی انتظار تغییر خواص فیزیکی یک ماده جامد را در اثر تغییر یافتن یکی از پارامترهای فوق، باید داشته باشیم. در ارتباط با نانو مواد گزارش‌های متعددی درخصوص تغییرات خواص فیزیکی یک جامد در اثر کاهش اندازه ذرات یا بلورها ارائه گردیده است (۱۴). در تحقیق حاضر بررسی خواص ضدقارچی ژل‌رویال به‌عنوان یک ماده طبیعی و ایمن به‌صورت خام و هم‌چنین به‌صورت نانوکامپوزیت در ترکیب با سپیولیت و نیترات نقره، بر علیه قارچ آسپرژیلوس فلاووس در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره‌های ژل‌رویال: نمونه ژل رویال از زنبورستان‌های صنعتی (پرورشی) در استان کرمان تهیه شد و سپس در آزمایشگاه دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی کرمان، در آب مقطر استریل حل شده و از کاغذ صافی واتمن رد شد تا در صورت وجود ناخالصی در ژل رویال، عصاره به‌دست آمده خالص باشد و سپس برای خشک شدن کامل، به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴۰°C قرار داده‌شد و سپس جهت تهیه غلظت‌های مورد نیاز وزن‌کشی شده و در داخل میزان مشخصی از آب مقطر استریل حل شد تا رقت‌های مورد نظر به‌دست آید.

ساخت نانوکامپوزیت‌های سپیولیت/ژل رویال و سپیولایت/ژل رویال/نیترات نقره

آماده‌سازی سپیولایت: سپیولایت ازجمله کانی‌های خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک جهان به‌شمار می‌رود. این کانی با توجه به ویژگی‌های منحصر به فردی دارد از جمله فراوانی و در دسترس بودن، ارزانی، تخلخل بالا، سطح ویژه زیاد و هم‌چنین قدرت جذب

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]

بالای آن به‌عنوان یک ترکیب پایه مناسب برای ساخت ترکیبات نانو کامپوزیت مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۵). اصلاح و آماده‌سازی سپیولایت در دو مرحله صورت گرفت. برای این منظور، ابتدا یک سوسپانسیون حاوی ۱۰ گرم بر لیتر از سپیولایت تهیه و سپس به مدت ۲۴ ساعت تحت هم‌زدن قرار گرفت. بعد از گذشت ۲ دقیقه که محلول در حال سکون باقی ماند، محلول بالایی سوسپانسیون به وسیله کاغذ صافی جداسازی گردید. در پایان به‌منظور خشک کردن، نمونه سپیولایت خالص شده در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس برای ۲۴ ساعت قرار گرفت (۱۶). سپس، مقدار ۱۰ گرم از سپیولایت مرحله قبل در ۱۰۰ میلی‌لیتر از اسید نیتریک ۱ مولار در دمای بین ۷۰تا ۹۰ درجه سانتی‌گرادبه‌مدت یک‌ساعت روی هم‌زن مغناطیسی قرار گرفت. سپس به‌منظور رسیدن به pH خنثی، عملیات شستشو دادن با آب، جداسازی با سانتریفیوژ و پخش مجدد با اولتراسونیک به طور متناوب انجام شد. در نهایت رسوب در دمای ۱۱۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

آماده‌سازی سپیولایت/ژل رویال: مخلوط ژل رویال و سپیولایت با نسبت ۱ به ۱ در آب مقطر به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳۶۰ دور بر دقیقه هم خورد. سپس ماده جامد چندین دفعه با کمک سانتریفوژ جدا و با آب مقطر شستشو داده شد و درنهایت در دمای اتاق، تحت شرایط خلاء به‌خوبی خشک شد. ماده حاصل سپیولایت/ژل رویال نام‌گذاری شد.

نانوکامپوزیت سپیولایت/ژل رویال/نیترات نقره: بسیاری از فلزات از جمله نقره، مس، تیتانیوم، منیزیوم، روی، طلا، نقره و آلژینات از گذشته‌های دور به‌عنوان مواد ضدمیکروبی مطرح بوده‌اند و امروزه نانوذرات آن‌ها به‌علت سطح بزرگ‌تر نسبت به حجم‌شان پتانسیل ضدباکتریایی قوی‌تری نیز دارد. از میان همه‌این‌ها ثابت شده است که نانوذرات نقره مؤثرترین عامل ضدمیکروبی برعلیه باکتری‌ها، ویروس‌ها و سایر میکروارگانیسم‌های یوکاریوتی هستند (۱۷). جهت تهیه، ابتدا نیترات نقره در آب مقطر حل شد و سپس سپیولایت/ژل رویال حاصل از مرحله قبل به آن اضافه شد (نسبت ۱ به ۲) مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه هم خورد. سپس آسکوربیک اسید در آب حل و آرام آرام به مخلوط بالا اضافه گردید. مخلوط به‌مدت ۲ ساعت در دمای اتاق هم خورد و در نهایت رسوب حاصل چندین دفعه با آب مقطر شتشو داده شد و در آون خشک گردید.

تهیه غلظت‌ها مناسب از قارچ مورد استفاده: سویه قارچ *A. Flavus* تهیه شده از انستیتو موسسه رازی کرج، در محیط کشت مایع PDA جهت ساخت مایه قارچی به‌مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ ºC در انکوباتور شیکر قرار داده شد. پس از رشد، قارچ در محیط کشت PDA آگار کشت داده شد. سپس با کمک لوپ استریل چند کلونی از محیط کشت قارچ مورد استفاده به محیط کشت شیب‌دار PDA (Potato Dextrose Agar) اضافه گردید تا کدورت محیط با لوله استاندارد نیم مک‌فارلند یکسان شود. قارچ مورد استفاده در غلظت استاندارد (1×10^{6} CTU/ml) نیم مک فارلند آماده و در مرحله بعد ۵۰۰ میکرولیتر از مایه قارچی استاندارد حاصله با استفاده از لوپ استریل بر روی محیط کشت جامد PDA کشت داده شدند.

انتشار دیسک (Disk diffusion): بعداز تهیه رقت‌های مختلف از عصاره‌های مورد نظر، عصاره‌ها به‌داخل چاهک‌های ایجاد شده در داخل پلیت‌های حاوی محیط کشت PDA اضافه گردید. سپس پلاک‌هایی از قارچ کشت داده شده (در حدود ابعاد ۰/۲ میلی‌متر) در مرکز هر پلیت به‌صورت نقطه‌ای قرار داده شد و کشت‌ها به‌مدت ۷ روز در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد، انکوبه شدند. برای تست کنترل منفی پلیتی با شرایط یکسان در حجم‌های مشابه آب (ml ۱) قرار گرفتند. هاله تشکیل شده دور هر چاهک بعد از ۷ روز نمایانگر ناحیه عدم رشد قارچ بود که با واحد میلی‌متر (قطر هاله) اندازه‌گیری شد. علاوه بر این یک دیسک نیز در آنتی‌بیوتیک مورد استفاده، جهت مبارزه با قارچ مولد آفلاتوکسین، با غلظت مشخص تهیه شد و بر روی محیط کشت PDA قرار داده شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۷ روز قرار گرفت. تمام مراحل آزمایش برای هر نمونه سه بار تکرار شدو قطر هریک‌از مناطق مهاری با کولیس دیجیتال اندازه‌گیری شد.

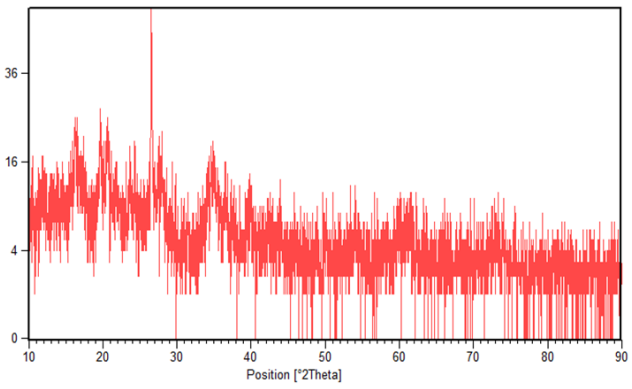
تعیین MFC (Minimally Fanjal Concentration) و MIC (Minimally Inhibitory Concentration): برای تعیین غلظت مهاری (MIC) عصاره‌ها بر قارچ *A. Flavus*، از محیط کشت مایع برای آماده سازی سوسپانسیون قارچ در کدورت نیم مک‌فارلند استفاده گردید. در این روش جهت تعیین نسبی حداقل غلظتی که باعث مهار رشد قارچ ها (MIC) و حداقل غلظتی که باعث مرگ قارچ ها (MFC) می‌گردد، از عصاره ها سریال‌های رقتی در محیط PDA براث تهیه گردید. سپس به هرکدام از رقت‌ها به ازای هر میلی‌لیتر محیط مایع، 5×10^{5} قارچی فعال اضافه گردید. در کنار لوله‌ها از کنترل مثبت (محیط کشت حاوی قارچ، بدون عصاره) و کنترل منفی (محیط کشت بدون قارچ) استفاده گردید. در نهایت لوله‌ها به‌مدت ۷۲ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه و سپس نتایج قرائت گردید. برای هرکدام‌از رقت‌های عصاره‌ها، آخرین رقتی که در آن هیچ‌گونه کدورتی مشاهده نگردید (عدم رشد) به‌عنوان MIC درنظر گرفته شد و از تمام لوله‌های بدون کدورت روی محیط PDA براث روی آگار کشت داده شد. آخرین رقتی از عصاره‌ها که قادر به مرگ ۹۹/۹ درصد از قارچ‌های زنده اولیه بود به‌عنوان MFC عصاره‌ها در نظر گرفته شد.

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]

آنالیز آماری: برای اندازه‌گیری قطر ناحیه مهاری، داده‌ها با نرم‌افزار SAS نسخه ۹.۱ (۱۸) به‌روش ANOVA مورد آنالیز آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها به‌روش توکی صورت پذیرفت.

نتایج

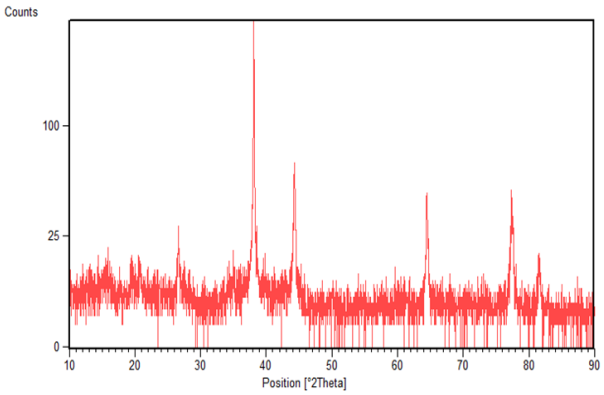
مشخصه‌یابی نانوکامپوزیت های ساخته شده: الگو XRD سپیولایت/ژل رویال در شکل ۱ نشان داده شده است. الگوی پراش مربوط به صفحات (۱۳۰)، (۰۶۰)، (۱۳۱)، (۲۶۰)، (۲۴۱)، (۰۸۰)، (۳۳۱)،(۳۴۱)، (۴۴۱)، (۳۷۱)،(۲۰۲)، (۵۴۱) و (۷۹۱) که به‌ترتیب در زوایای ۲θ= ۱۲/۰۳°، ۱۹/۹۶°، ۲۰/۸۳°، ۲۴/۰۳°، ۲۵/۴۳°، ۲۶/۸۲°، ۲۸/۱۹°، ۲۹/۵۶°، ۳۳/۵۱°، ۳۵/۲۳°، ۳۶/۸۵°، ۴۰/۰۸° و ۶۰/۱۰° مشاهده می‌شود، بر اساس مقایسه با الگوی استاندارد سپیولایت(JCPDS card No. 13-0595)، مطابق با ساختار سپیولایت با سلول‌های واحد ارتورومبیک می‌باشد. علاوه بر این، الگوهای موجود در زوایای (۲۰۲) ۴۴/۰۱°، (۱۲۲)° ۵۸/۲۲، (۳۰۰) ۶۲/۲۸° و (۱۲۸) ۹۵/۷۲° مربوط به صفحات شبکه کلسیت (JCPDS card No. 05-0586) می‌باشد (۱۹). ژل رویال به‌دلیل ساختار بی‌شکل در الگو XRD پیک نشان نمی‌دهد و فقط منجر به کاهش شدت پیک‌های سپیولایت می‌شود.



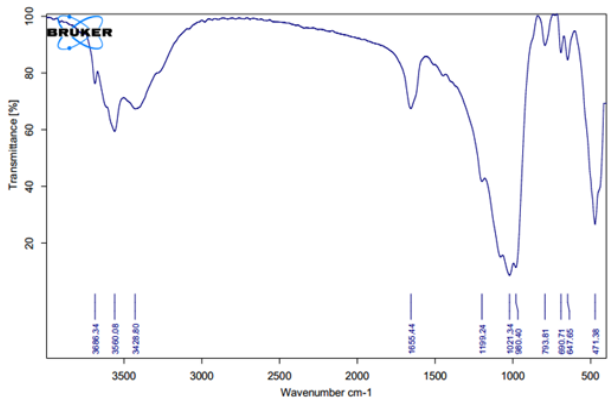
شکل ۱: الگوXRD سپیولایت/ ژل رویال

در شکل ۲، پیک‌های مربوط به نانوذرات نقره در زوایای (۱۱۱) ۱۸/۳۸°، (۲۰۰) ۲۵/۴۴°، (۲۲۰) ۷۲/۶۴°، (۳۱۱) ۴۰/۷۷° و (۳۳۱) ۴۵/۸۳° قابل مشاهده هستند (JCPDS card No. 01-087-0719) که‌نشان‌دهنده سنتز موفقیت‌آمیز نانوکامپوزیت سپیولایت/ژل رویال/ نقره می‌باشد طیف FT-IR سپیولایت در شکل ۳ نشان داده شده‌اند که باندهای جذبی مشاهده‌شده در $3560\ cm^{-1}$، $3428\ cm^{-1}$ و $1655 cm^{-1}$ در طیف FT-IR مربوط به گروه‌های هیدروکسی آب می‌باشد (۲۰).

پیک‌های مشخصه Si–O–Si را می‌توان در $1021\ cm^{-1}$، $1199\ cm^{-1}$ و $980\ cm^{-1}$ مشاهده کرد (۲۱). پیک جذبی در $647\ cm^{-1}$ نشان‌دهنده ارتعاشات خمشی پیوند Mg–OH می‌باشد (۲۲)..



شکل ۲: الگوXRD سپیولایت/ ژل رویال/نقره

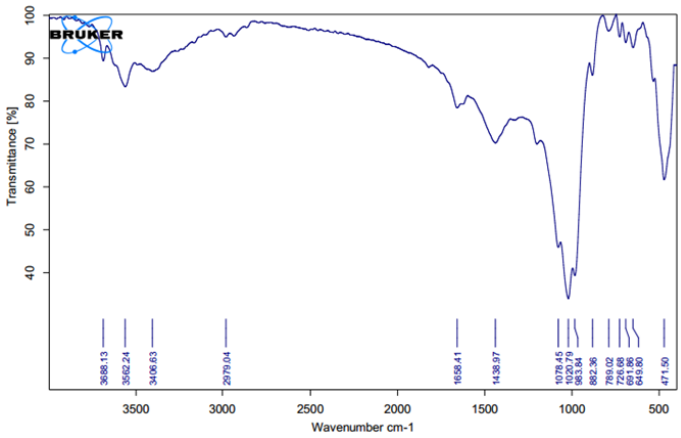


شکل ۳: طیف FT-IR سپیولایت

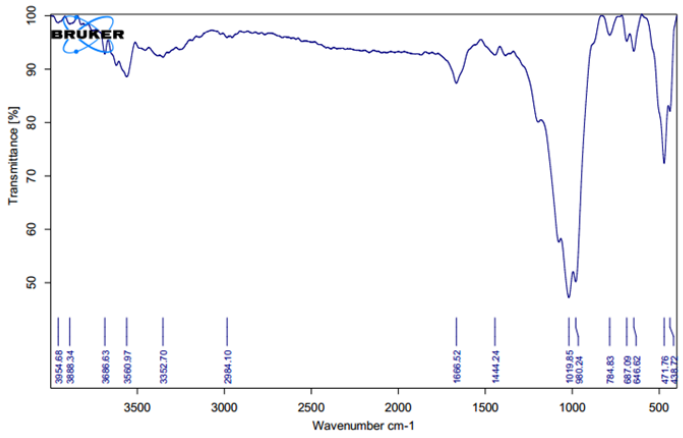
در نمونه سپیولایت/ژل رویال، حضور پیک‌های جذبی در نواحی $1438\ cm^{-1}$ و $2979 cm^{-1}$ حاکی از پوشش موفقیت‌آمیز ژل رویال بر روی کانی سپیولایت است (شکل ۴). به‌منظور مقایسه بهتر، طیف FT-IR مربوط به نانوکامپوزیت سپیولایت/ژل رویال/نقره در شکل ۵ نشان داده شده است.

اثر ضدقارچی فرم‌خام و نانوکامپوزیت ژل‌رویال: در جدول ۱ قطر هاله ممانعت از رشد باکتری با میزان عصاره ژل رویال و نانوکامپوزیت نشان داده شده است. همان‌طورکه مشاهده می‌شود، با افزایش میزان عصاره موجود در دیسک‌ها، قطر هاله ممانعت از رشد اطراف دیسک‌ها نیز افزایش یافته است.

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]



شکل ۴: طیف FT-IR سپیولایت/ژل رویال



شکل ۵: طیف FT-IR نانوکامپوزیت سپیولایت/ژل رویال/نیترات نقره

جدول ۱: میزان هاله رشد در غلظت‌های مختلف عصاره‌های ژل رویال ونانوکامپوزیت ژل رویال

ماده آنتی باکتریال رقت (mg/ml)	ژل رویال (mm)	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال (mm)	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال/نقره (mm)
۱۰	۶/۳	۶/۴	۷/۳
۲۰	۶/۴۱	۷/۰۰	۷/۶
۳۰	۶/۷۵	۷/۵	۸/۰۶
۴۰	۶/۸۴	۷/۶۹	۸/۷
۵۰	۷/۰۰	۸/۰۹	۹/۲
۶۰	۷/۱۱	۹/۰۰	۹/۳
۷۰	۷/۴۳	۹/۰۸	۹/۵
۸۰	۷/۷۶	۹/۱	۹/۸۸
۹۰	۸/۰۰	۱۰/۲۴	۱۰/۰۵
۱۰۰	۸/۳۶	۱۰/۲۷	۱۰/۴۱

هم‌چنین در جدول ۲ نتایج حاصل از روش حداقل ممانعت کننده رشد (MIC) نشان داده شده است. همان گونه که مشاهده می شود در این روش هم میزان مهار رشد قارچ با عصاره ژل رویال و نانوکامپوزیت ژل رویال رابطه مستقیم دارد. غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر که در تحقیق حاضر به‌عنوان آخرین حد غلظت مورد استفاده قرار گرفته است، دارای تاثیر بازدارنده‌ای بر روی قارچ آسپرژیلوس فلاووس می‌باشد.

مقایسه اثرات ضدقارچی عصاره‌های مختلف مورد استفاده:

در تحقیق حاضر مقایسه بین اثرات ضدقارچی عصاره‌های ژل رویال، نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال و سپیولیت/ژل رویال/نقره و هم‌چنین داروی ضدقارچی رایج مورد استفاده انجام شد. نتایج نشان داد که تفاوت بین تاثیر عصاره های مورد استفاده در مقایسه با آنتی قارچ معنی‌دار می‌باشد (P<۰/۰۱). هم‌چنین اختلاف بین عصاره‌های ژل رویال به‌صورت خام و به‌صورت نانوکامپوزیت بررسی شد هرچند که عصاره نانوکامپوزیت ژل رویال به میزان ناچیزی تاثیر آنتی قارچی بیش تری نسبت به عصاره خام داشت (P<۰/۰۱). به هرحال هرسه نوع عصاره دارای تاثیر آنتی قارچی قابل مشاهده‌ای بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس بودند (جدول ۳). شکل ۶ به‌صورت شماتیک تفاوت هاله رشد قارچ آسپرژیلوس فلاووس نسبت به تغییرات غلظت عصاره‌های مورد استفاده را نشان می‌دهد.

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]

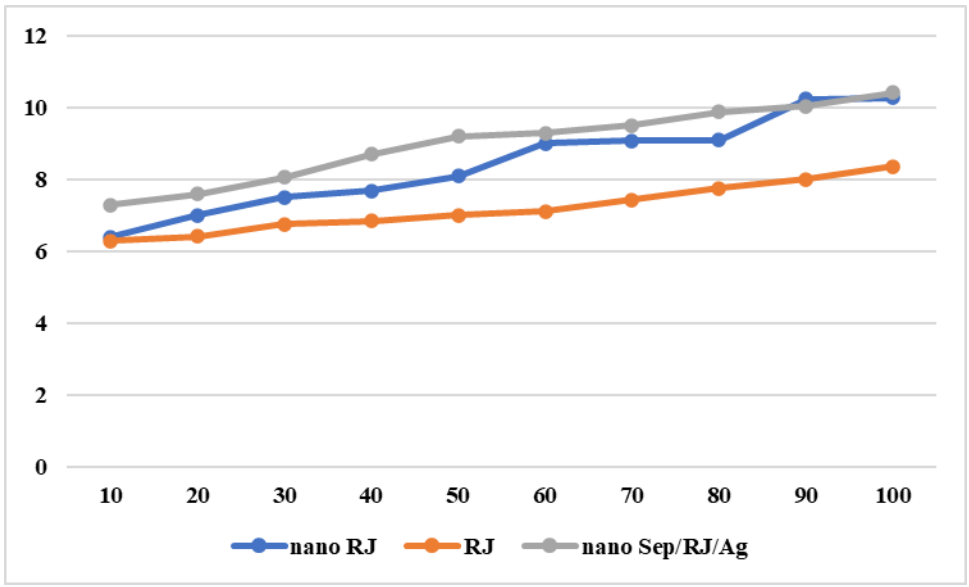
جدول ۲: نتایج حداقل ممانعت‌کننده رشد (MIC) حداقل غلظتی که باعث مرگ قارچ‌ها (MFC) عصاره‌های مختلف ژل رویال ونانوکامپوزیت ژل رویال بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس

	MIC			MFC		
رقت (mg/ml)	ژل رویال	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال/نقره	ژل رویال	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال/نقره
۱۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۲۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۳۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۴۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۵۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۶۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۷۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۸۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۹۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۱۰۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۲۰۰	رشد قارچ	رشد قارچ	رشد قارچ	-	-	-
۴۰۰	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم رشد قارچ	عدم زنده‌مانی قارچ	عدم زنده‌مانی قارچ	عدم زنده‌مانی قارچ

جدول۳: میانگین قطر هاله عدم رشد دیسک‌های حاوی عصاره‌های بره موم، ژل رویال و نانوکامپوزیت آن‌ها بر قارچ آسپرژیلوس فلاووس

موادآنتی باکتریال قارچ	ژل رویال (mm)	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال(mm)	نانوکامپوزیت سپیولیت/ژل رویال/نقره(mm)	بستر	آب مقطر استریل	آنتی‌بیوتیک (mm)
آسپرژیلوس فلاووس	۷/۱۹۶±۱/۱۱۱	۸/۴۳۷±۰/۶۸۰	۹/۰۰±۱/۰۴۵	*	*	۱۸/۰۷

* فاقد هاله عدم رشد



شکل۶: تغییرات اندازه هاله رشد بر اساس غلظت در عصاره‌های مختلف ژل رویال و نانوکامپوزیت‌های ژل رویال برای قارچ آسپرژیلوس فلاووس

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]

بحث

ژل رویال سرشار از پروتئین ها، مونوساکاریدها، پلی فنل ها و ویتامین‌ها است که فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی برای آن فراهم می کند. از نظر شیمیایی، ژل رویال امولسیونی از پروتئین‌ها، قندها و لیپیدهای موجود در آب است. علاوه بر این، حاوی حدود ۱/۵٪ نمک‌های معدنی (به‌طور عمده نمک های مس، روی، آهن، کلسیم، منگنز، پتاسیم و سدیم) و مقادیر کمی فلاونوئیدها، پلی‌فنول‌ها و ویتامین‌ها (بیوتین، اسیدفولیک، اینوزیتول، نیاسین، اسیدپانتوتنیک، ریبوفلاوین، تیامین و ویتامینE) است. ژل رویال را می‌توان از نظر فلاونوئیدهای موجود در آن متمایز کرد: فلاونون‌ها (هسپرتین، ایزوساکورانتین و نارینگنین)، فلاون ها (آکاستین، آپیژنین و گلوکوزید آن، کریزین و لوتئولین گلوکوزید)، فلاونول ها (ایزوراهمنتین و کامفرول گلوکوزیدها) و ایزوفلاونوییدها (فورمونونتین و جنیستئین)(۲۳). با این حال، اگرچه ترکیب ژل رویال از زمان‌های گذشته، مورد مطالعه قرار گرفته است، شناسایی کامل ترکیب پیچیده ژل رویالیک موضوع تحقیقاتی است و توسعه تکنیک‌های جدید خصوصیات، امکان کشف ترکیبات جدید آن را فراهم کرده است (۲۴). به‌عنوان مثال، ۱۹ پروتئین جدید در ژل‌رویال توسط الکتروفورز ژل یک‌بعدی و روش‌های پروتئومی بدون ژل شناسایی شده است (۲۵). اسید ترانس ۲-دسنوئیک که اسید ژل رویال نامیده می‌شود و خواص آنتی‌بیوتیکی قوی، در آن شناسایی شده است (۲۶، ۲۷). تحقیقات گذشته نشان داده اند که آنتی اکسیدان های رایج مثل توکوفرول‌ها، فلاونوییدها و ترکیبات مربوطه مثل کومارین‌ها، مشتقات سینامیک اسید، در ترپن فنولیک و اسیدفنولیک در محصولات طبیعی وجود دارند. اثرضدقارچی برخی مواد طبیعی به‌واسطه وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی می‌تواند ناشی از آسیب به DNA، میتوکندری، آسیب به دیواره سلولی و نهایتاً مرگ میکروارگانیسم باشد (۲۸). مطالعات زیادی نقش ژل رویال را به‌عنوان یک پاک‌کننده رادیکال‌های آزاد تأیید کرده‌اند. به‌عنوان مثال، Liu و همکاران، خواص آنتی‌اکسیدانی ژل رویال را که به‌عنوان اثر حذف رادیکال‌ها بر رادیکال‌های DPPH، هیدروکسیل و سوپراکسید بیان می‌شود، بررسی کردند (۲۹). محققان هم‌چنین قدرت کاهنده، اثر بازدارندگی آن بر اکسیداسیون اسید لینولئیک و فعالیت سوپراکسید دیسموتاز را ارزیابی کردند. نتایج به دست آمده بسته به سن لارو (۱، ۲، یا ۳ روزه) و زمان برداشت پس از انتقال لارو از فنجان‌های سلول ملکه به کندوهای زنبور عسل (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) مقایسه شد. نویسندگان بیان کردند که اثر مهار رادیکال DPPH (در محدوده ۴۳/۰-۶۲/۸٪) و هم‌چنین اثر مهاری بر تشکیل رادیکال سوپراکسید (از ۲۳/۹ تا ۳۴/۴٪) و بر تشکیل رادیکال هیدروکسیل (۴۸-۶۸٪) است. علاوه بر این، نمونه ژل رویال یک اثر بازدارنده بر پراکسیداسیون اسید لینولئیک نشان داد (۸/۶-۲۷/۹٪) (۲۹). Guo و همکاران، خواص آنتی‌اکسیدانی قوی‌ای را برای پپتیدهای به‌دست آمده پس از هیدرولیز پروتئین‌های ژل رویال با استفاده از پروتئاز N شناسایی کردند. خواص آنتی‌اکسیدانی پپتیدهای به‌دست آمده از نظر مکانیسم‌هایی مانند هیدروژن پراکسید، سوپراکسید و فعالیت‌های رادیکال‌های هیدروکسیل ۲ و فلزات مورد بررسی قرار گرفت. فعالیت کیلینگ دوازده پپتید به‌دست آمده فعالیت مهارکننده رادیکال‌های هیدروکسیل قوی را نشان دادند. نویسندگان به این نتیجه رسیدند که دی و تری پپتیدها می توانند فعالیت آنتی اکسیدانی بیش‌تری نسبت به اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده خود داشته باشند (۳۰). نتایج تحقیق حاضر نشان‌داد که ژل رویال مورد استفاده که در استان کرمان تولید شده است دارای خواص آنتی قارچی قابل قبولی است به طوری که میزان MIC و MFC آن۴۰۰mg/ml می باشد. هم‌چنین نتایج نشان داد که خاصیت آنتی قارچی، عصاره ژل رویال مورد استفاده با افزایش غلظت افزایش یافته است، نتایج این تحقیق با بررسی‌های García و همکاران (۳۱) مطابقت داشت به نحوی که در آن مطالعه، اثر دو نوع ژله‌رویال مربوط مناطقی از آرژانتین بر روی *Staphylococcus micrococcus*، *Staphylococcus aureus*، *Enterococcus luteus*، *Escherichia coli*، *Pseudomonas aeruginos* و *Klebsiella pneumoniae faecalis* به روش دیسک دیفوژن و میکرودایلوشن بررسی گردید. نتایج بیانگر مهار دو نمونه ژله‌رویال به دست آمده از مناطق مختلف بر باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت مورد استفاده بوده و در کل باکتری‌های گرم مثبت حساس‌تر بودند، هم‌چنین نمونه‌های ژله رویال هر منطقه دارای MIC و MBC متفاوت بود که احتمالاً این تفاوت با منشأ جغرافیایی و یا تنوع بین کلنی‌های زنبور عسل در ارتباط است. علاوه بر آن، طبق مطالعه Moselhy و همکاران، اثر ژل‌رویال *Apis mellifera* جمع‌آوری شده از چین و مصر بر روی باکتری‌های *Pseudomonas aeruginos*، *Bacillus subtilis*، *Escherichia coli*، *Staphylococcus aureus* و ۴ نوع قارچ *Spergillus niger*، *Aspergillus fumigates, Candida albicans* و *Syncephalastrum racemosum* بررسی گردید و نتایج بیانگر MIC بالاتر ژل رویال مصر نسبت به چین بود و بیش‌ترین تأثیر بر روی باکتری‌های گرم مثبت مشاهده شد و در بین باکتری های گرم منفی *Escherichia coli* بیش‌ترین حساسیت را نشان‌داد اما هیچ‌یک از ژل‌های رویال بر روی قارچ *Syncephalastrum racemosum* اثری نداشتند (۳۲).

نتیجه‌گیری: در تحقیق حاضر اثرات ضدقارچی عصاره ژل رویال و ترکیبات نانوکامپوزیت آن به‌خصوص در ترکیب با نیترات نقره، مورد تایید قرار گرفت. بنابراین می‌توان امیدوار بود که در آینده با مطالعات حیوانی بتوان با بررسی عوارض احتمالی آن به ترکیبی موثر و طبیعی

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]

در از بین بردن قارچ *A. flavus* که یکی از مهم‌ترین قارچ‌های مولد آفلاتوکسین و مسمویت در دانه‌های خوراکی و دانه‌های روغنی می باشد، دست یافت.

تشکر و قدردانی

هزینه‌های تحقیق حاضر از طرح پژوهشی شماره ۵۴۰/۹۹ پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم‌محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان فراهم شده است، بدین وسیله نویسندگان لازم می‌دانند که مراتب قدردانی خود را اعلام نمایند.

منابع

1. **Zarei, F. and Mansouri, M., 2013.** Comprehensive book of IQB mycology. Tehran: Dr. Khalili's editorial group. 165 p. (In Persian)
2. **Montville, T.J., 2005.** Matthews KR: Food Microbiology, an Introduction. Washington D C: ASM Press. 272-280.
3. **Deshpande, S.S., 2002.** Handbook of Food Toxicology. New York: Mercel Dekker. 390-411.
4. **Jay, M.J., 2000.** Modern Food Microbiology. 6th edition. New York: Chapman & Hall. 595-600.
5. **Mehdizadeh, M. and Mohammad Alipur, M., 1999.** Bacterial and fungal contamination of food. Isfahan, Arkan Publications. 105-102. (In Persian)
6. **Bommakanti, A.S. and Waliyar, F., 2008.** Importance of aflatoxin and its producing fungi (Online). Available from: www.aflatoxin. info/health.asp
7. **Farivar, F., Dastoorani, M., Taliei, F. and Bahri Binabaj, F., 2023.** Fungi flora of animal feed and aflatoxin contamination of feed and milk in dairy farms of Sabzevar County. Journal of Animal Environment. 14(4): 81-86. doi: 10.22034/AEJ.2022.311157.2667 (In Persian)
8. **Liu, Y. and Wu, F., 2010.** Global burden of aflatoxin-induced hepatocellular carcinoma: a risk assessment. *Enviro Health Perspect*. 118(6): 818-824. doi: 10.1289/ehp.0901388
9. **Naseri, A., Arj, P., Najaf, M.J. and Rakhshandeh zadeh, H., 2015.** Antifungal Effects of Methanolic and Aquatic Extract of Leaf and Walnut Peel on candidate Species. *Journal of Translational Medical Research*. 22(2): 115-124. (In Persian)
10. **Tyang, N.J. and Verpoorte, R., 2013.** A Review of the Medicinal Potentials of Plants of the Genus *Vernonia* (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*. 146(3): 681-723. doi: 10.1016/j.jep.2013.01.040
11. **Salem, M.Z.M., Zidan, Y.E., Mansour, M.M.A., HadidiNesrin, M.N.E. and Elgat Wael, A.A.A., 2016.** Antifungal Activities of Two Essential Oils Used in the Treatment of Three Commercial Woods Deteriorated by Five Common Mold Fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 106: 88-96. doi: 10.1016/J.IBIOD.2015.10.010
12. **Shahrashtani, N., 2012.** Honey bee and its breeding (with a complete revision and the latest beekeeping achievements). Sepehr Publications (In Persian)
13. **Ebad, F. and Azimi, A., 2017.** A review on the biological function of royal jelly with an emphasis on its effects on health and longevity, National Conference on Bee Products from the Perspective of Biology, Health and Economy, Isfahan.
14. **Pileni, M.P., 2007.** Size and morphology control of nanoparticle growth in organized surfactant assemblies. Nanoparticles and nanostructured films: Wiley-VCH Verlag GmbH. 71-89.
15. **Murray, H.H., 2006.** Chapter 7 Palygorskite and Sepiolite Applications. In: Haydn HM, editor. Developments in Clay Science: Elsevier. 131-40.
16. **Doğan, M., Turhan, Y., Alkan, M., Namli, H., Turan, P. and Demirbaş, Ö., 2008.** Functionalized sepiolite for heavy metal ions adsorption. *Desalination*. 230(1-3): 248-268.
17. **Gong, P., Li, H., He, X., Wang, K., Hu, J., Tan, W., Tan, S. and Zhang, X.Y., 2007.**Preparation and antibacterial activity of Fe3O4@Ag nanoparticles. *Nanotech*. 18: 604-611. doi: 10.1088/0957-4484/18/28/285604
18. **SAS. 2003.** Statistical Analysis System. SAS Release 9.1 for windows, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
19. **Sheikhhosseini, A., Shirvani, M. and Shariatmadari, H., 2013.** Competitive sorption of nickel, cadmium, zinc and copper on palygorskite and sepiolite silicate clay minerals. *Geoderma*. 192(1): 249-253. doi: 10.1016/j.geoderma.2012.07.013
20. **Lazarević, S., Janković-Častvan, I., Jovanović, D., Milonjić, S., Janaćković, D. and Petrović, R., 2007.** Adsorption of Pb^{2+}, Cd^{2+} and Sr^{2+} ions onto natural and acid-activated sepiolites. *Applied Clay Science*. 37(1-2): 47-57. doi: 10.1016/j.clay.2006.11.008
21. **Eren, E., Gumus, H. and Ozbay, N., 2010.** Equilibrium and thermodynamic studies of Cu (II) removal by iron oxide modified sepiolite. *Desalination*. 262(1-3): 43-49.
22. **Tabak, A., Eren, E., Afsin, B., and Caglar, B., 2009.** Determination of adsorptive properties of a Turkish Sepiolite for removal of Reactive Blue 15 anionic dye from aqueous solutions. *Journal of hazardous materials*. 161(2-3):1087-94. doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.04.062
23. **López-Gutiérrez, N., del Mar Aguilera-Luiz, M., RomeroGonzález, R., Vidal, J.L.M. and Frenich, A.G., 2014.** Fast analysis of polyphenols in royal jelly products using automated TurboFlow™-liquid chromatography Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*. 973: 17-28. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.09.038
24. **Ahmad, S., Campos, M.G., Fratini, F., Altaye, S.Z. and Li, J., 2020.** New Insights into the Biological and Pharmaceutical Properties of Royal Jelly. *International Journal of Molecular Sciences*. 21(2):382. doi: 10.3390/ijms21020382.
25. **Han, B., Li, C., Zhang, L., Fang, Y., Feng, M. and Li, J., 2011.** Novel royal jelly proteins identified by gel based and gel-free proteomics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(18): 10346-10355. doi: 10.1021/jf202355n
26. **Ramadan, M.F. and Al-Ghamdi, A., 2012.** Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods*. 4(1): 39-52. doi: 10.1016/j.jff.2011.12.007
27. **Weaver, N., Johnston, N.C., Benjamin, R. and Law, J.H., 1968.** Novel fatty acids from the royal jelly of honeybees (*Apis mellifera*, L.). *Lipids.* 3(6): 535-538. doi: 10.1007/BF02530898
28. **Firouzbakhsh, F., Zolfaghari, A., Mehrabi, Z. and Khalesi, M.K., 2015.** Invitro antifungal activity of Nettle (*Urtica dioica*) and Basil (*Ocimum basilicum*) extracts on Saprolegniaparasitica. *Journal of Animal Environment*. 7(3): 211-216. (In Persian)
29. **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. doi: 10.1021/jf802494e
30. **Guo, H., Kouzuma, Y. and Yonekura, M., 2009.** Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*. 113(1): 238-245. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.081
31. **García, M. C., Finola, M. S., and Marioli, M. J., 2010.** Antibacterial activity of Royal jelly against bacteria capable of infecting cutaneous wounds. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*. 2(3): 93-99. doi:10.3896/IBRA.4.02.3.02
32. **Moselhy, W., Fawzy, A. and Kamel, A., 2013.** An evaluation of the potent antimicrobial effect and unsaponifiable matter analysis of the Royal jelly. *Life Science Journal.* 2(10): 290-296.

[Downloaded from www.journalaer.com on 2026-06-18]