

DAŽĀDU FENOLU SAVIENOJUMU SATURS KAMEŅU UN BIŠU MEDŪ CONTENT OF VARIOUS PHENOLIC COMPOUNDS IN BUMBLEBEE AND BEE HONEY

Fredrijs Dimiņš¹, Ingmārs Cinkmanis¹, Ingrīda Augšpole², Anete Ķeķe¹

¹Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Pārtikas tehnoloģijas fakultāte;

²Latvijas Lauksaimniecības universitāte, Lauksaimniecības fakultāte

fredisd@llu.lv

Abstract. *Bumblebee honey is a relatively unknown culinary product. The amount of phenolic compounds is one of the indications of honey's biological activity. As a result, a comparison of these properties in bumblebee and bee honey would be useful. Our goal was to find out how much polyphenolic compounds were in bumblebee and bee honey and compare them. For testing, certain bee honey samples (multifloral and buckwheat) as well as Bumblebee honey from Russia were chosen. A Russian company's site (<https://bearhoney.ru>) was used to acquire honey samples. The phenolic components in bee honey and bumblebee honey samples were determined (Schimadzu LC-40 Nexera) by using the method of high performance liquid chromatography. The research revealed that bumblebee honey contained phenolic compounds not found in any other sample of bee honey. Bumblebee honey included polyphenols such as caffeic acid. Bee honey did not contain this polyphenol. The research results showed that many of the identified polyphenolic compounds found in bee honey samples were not found in bumblebee honey. Those were: homovanillic acid, vanillic acid, epicatechin, hydroxycinnamic acid, quercetin, and luteolin among them. Individual phenolic compounds were found to be higher in bee honey than in bumblebee honey, according to the findings. This could be explained by the fact that bumblebees visit nectar-producing plants that bees do not. Bees and bumblebees have diverse nectar processing cycles, as well as a variety of biochemical and physiological processes.*

Key words: *bee honey, bumblebee honey, polyphenols, total phenols.*

Ievads

Kameņu medus ir mazāk pazīstams pārtikas produkts, kas nav sastopams plašā tirdzniecībā, un ar tā iegūšanu nodarbojas visai ierobežots skaits biškopju. Sabiedrībā tiek uzskatīts, ka kameņu medus ir daudz vērtīgāks par bišu medu. Ir zināms, ka kameņu saimes nav tik lielas kā bišu saimes (Leonhardt & Blüthgen, 2012; Weidenmüller et al., 2002). Kamenes, atšķirībā no bitēm, neuzkrāj medu ziemai, jo ziemo tikai kameņu mātīte. Kamenes var ievākt nektāru arī no augiem, no kuriem bites to nevar iegūt. Kameņu ķermenī nektārs tiek pārstrādāts par medu daudz ilgāk nekā bišu organismā, tāpēc iegūtais kameņu medus daudzums ir krietni mazāks. Atsevišķos zinātniskās literatūras un interneta avotos pausta informācija, ka kameņu medus ķīmiskais sastāvs ir daudz bagātīgāks par bišu medu (Madebekin, 2004). Kameņu medu raksturo daudz augstāks fermentu, mikroelementu un vitamīnu saturs, salīdzinot ar bišu medu. Attiecīgi 100 g kameņu medus aizvieto 1 kg bišu medu, ja salīdzina fermentu, mikroelementu un vitamīnu saturu. Tiek uzskatīts, ka kameņu medum piemīt spēcīgāka dziedinošā iedarbība. Tas palīdz ātrāk ārstēt tādas veselības problēmas kā gremošanas traucējumus, elpošanas problēmas (astma, bronhīts), noteiktas aknu slimības un dzimumorgānu problēmas (Bumblebee..., 2021). Viens no medus bioloģiskās aktivitātes rādītājiem ir dažādu fenolu savienojumu saturs tajā. Informācija par fenolu savienojumu saturu bišu medū ir atrodama dažādos zinātniskajos rakstos. Savukārt informācija par kameņu medus sastāvu un tā bioloģisko aktivitāti ir grūti atrodama. Šī iemesla dēļ svarīgi ir iepazīties ar kameņu medus un bišu medus bioloģisko aktivitāti raksturojošo rādītāju savstarpējo salīdzinājumu.

Kā zināms, dažādu fenolu savienojumu saturs lielā mērā nosaka pārtikas produktu antioksidatīvās īpašības. Antioksidanti piedalās daudzu cilvēka ķermeņa funkciju kontrolēšanā (Khalil et al., 2010). Oksidācijas procesa rezultātā cilvēka organismā veidojas brīvie radikāļi. Šie radikāļi ir svarīgi elpošanas un vielmaiņas procesa nodrošināšanai. Tie iznīcina arī svešās baktērijas. Tomēr, ja ķermenī antioksidantu aktivitāte ir zema, brīvie radikāļi var veidoties pārmērīgā daudzumā un radīt medicīniskas problēmas. Vienlaikus antioksidanti kontrolē brīvo radikāļu veidošanos organismā (Khalil et al., 2010; Augšpole et al., 2012). Dabisko antioksidantu lietošana ir saistīta ar aizsargājošu iedarbību pret daudzām slimībām, piemēram, sirds un asinsvadu slimībām, aptaukošanos, urīnceļu slimībām, vēzi un citām (Klavins et al., 2017).

Pamatojoties uz iepriekš minēto, var pieņemt, ka kameņu medum ir atšķirīgs sastāvs, attiecīgi arī citādāks antioksidantu saturs.

Polifenoli ir vieni no savienojumiem ar antioksidatīvām īpašībām. Polifenoli ir ķīmiski savienojumi ar benzola gredzeniem. Fenolu savienojumiem ir liela dažādība ķīmiskajās struktūrās, un tie var būt monomēri vai kompleksie polimēri. Fenola savienojumi ir grupa, kas sastāv no tūkstošiem dažādu savienojumu, un daži no tiem labvēlīgi ietekmē ilgumžīvu, garīgo veselību, sirds un asinsvadu sistēmu un acu orgānus. Polifenoli ir galvenais pārtikas antioksidantu avots. Tie ir atrodami pākšaugos, augļos un ogās, dārzeņos, sarkanvīnā, šokolādē, zaļajā tējā, graudaugos un daudzās citās zāļu tējās (Olszowy, 2019; Zarins et al., 2018).

Pētījuma mērķis bija noteikt un salīdzināt dažādu polifenolu savienojumu, kā arī kopējo fenolu saturu kameņu un bišu medū.

Materiāli un metodes

Pētījumā veiktajām analīzēm tika izmantoti dažādu ziedu un griķu ziedu medus paraugi, kā arī kameņu medus paraugi. Gan bišu medus paraugi, gan kameņu medus tika iegādāti interneta vietnē bearhoney.ru (Krievija). Analizētie polifenoli no bišu medus paraugiem tika ekstrahēti, izmantojot metanolu. Savukārt polifenolu ekstrahēšanai no kameņu medus, izmantots metanols un etanols.

Fenolu savienojumu noteikšanai kameņu un bišu medū tika izmantots augstspiediena šķidrums hromatogrāfs (Shimadzu Prominence HPLC), kurš aprīkots ar Diožu matricas detektoru (DAD). Hromatografēšanai tika izmantota C18 analītiskā kolonna. Kā eluenti tika lietots metanols, ūdens un etiķskābe. Eluēšanā īstenots gradienta režīms: metanols (A 20%), ūdens (B 78.4%) un etiķskābe (C 1.6%). Iestatījumi: 17.50 minūte – 58.5% B koncentrācija, C koncentrācija 1.2%; 35. minūte – analīzes beigas (Cinkmanis et al., 2018).

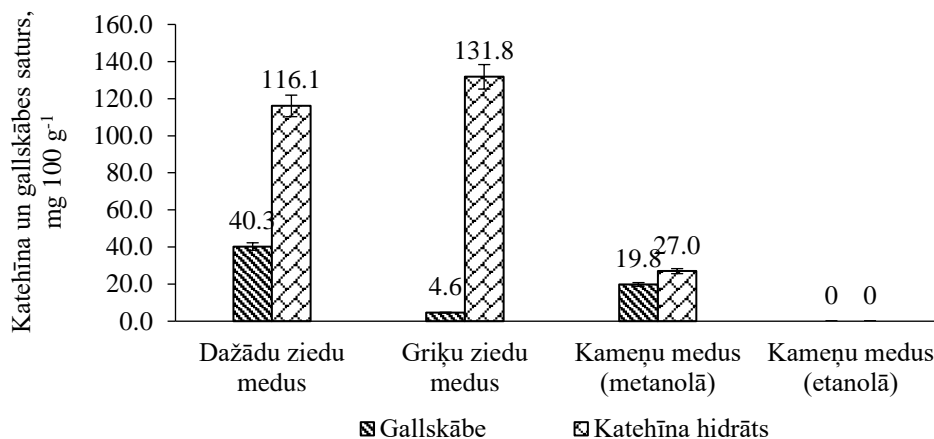
Paraugu šķīdumi hromatogrāfā tika ievadīti, izmantojot automātisko paraugu ievadīšanas sistēmu, lietojot šādus iestatījumus: plūsmas ātrums 1 mL min⁻¹. Polifenolu savienojumu noteikšanai, izmantotie gaismas viļņu garumi: 253, 268, 278 un 298 nm (Cinkmanis et al., 2018).

Analizēti šādi fenolu savienojumi: gallskābe; katehīns; 3,5-dihidroksibenzoskābe; 4-hidroksibenzoskābe; hlorogēnskābe; homovanilskābe; vanilskābe; p-kumarskābe; sinapīnskābe; ferulskābe; 2-hidroksi-kanēļskābe; rufīns; kvercētīns; luteolīns; kemferols; kafijas skābe.

Kopējais fenolu saturs kameņu un bišu medus paraugos tika noteikts spektrofotometriski, lietojot Folīna-Čokalti reaģentu. Katrs analizējama paraugs tika šķīdināts destilētā ūdenī un filtrēts. Šķīdumi sajaukti ar 0.2 N Folīna-Čokalti reaģentu. Pēc 5 minūtēm pievienots nātrija karbonāta šķīdums. Pēc 2 h sagatavoto paraugu uzglabāšanas istabas temperatūrā tiek mērīta šķīdumu gaismas absorbcija, kā salīdzināšanas šķīdumu izmantojot destilētu ūdeni. Izmantots 760 nm liels gaismas viļņa garums (Kaškoniene, 2009; Wabaidur et al., 2020; Augšpole et al., 2018).

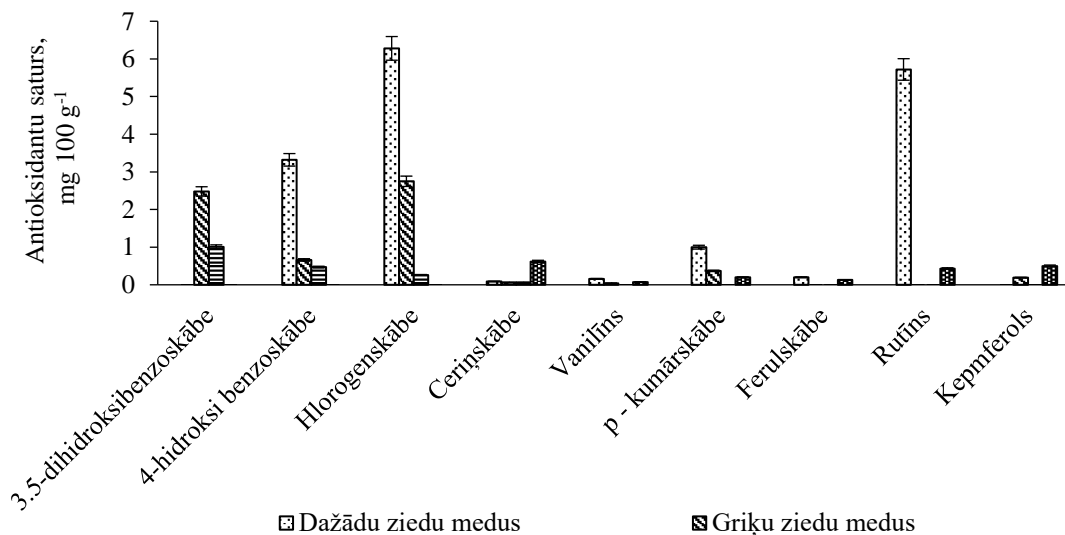
Rezultāti un diskusijas

Dažādu fenolu savienojumu noteikšanas rezultāti apkopoti četros attēlos. 1. attēlā ietverti dati par identificētajiem antioksidantiem ar salīdzinoši augstāku saturu kameņu un bišu medū. Pētījums parādīja, ka identificētie antioksidanti ar vislielāko saturu analizētajos paraugos ir katehīns un gallskābe. Ja salīdzina šo savienojumu saturu kameņu un bišu medū, iespējams konstatēt, ka katehīna saturs bišu medū ir ievērojami augstāks nekā kameņu medū. Savukārt gallskābes saturs ir ievērojami augstāks tikai dažādu ziedu medus paraugā, salīdzinot ar kameņu medus paraugu. Turpretī griķu ziedu medus paraugā tas ir viszemākais. Kā zināms, gallskābe ir atrodama dažādos augos. Visbiežāk tā sastopama dažādās zāļu tējās. Zemās koncentrācijās tai piemīt antioksidatīvas īpašības, aknas attīroša iedarbība, kā arī tā veicina dažādu rētu ātrāku dzīšanu. Savukārt katehīni uzlabo organisma spēju pretoties dažādiem gripas vīrusiem (Díaz-Gómez et al., 2014).



1. att. Polifenoli ar salīdzinoši augstāku saturu bišu un kameņu medū.
Fig. 1. Phenolic compounds with highest content in bee and bumblebee honey.

Identificētos polifenolu savienojumus ar vidēju un zemu saturu kameņu un bišu medū iespējams aplūkot 2. attēlā.



2. att. Fenolu savienojumi ar vidēju un zemu saturu kameņu un bišu medū.
Fig. 2. Phenolic compounds with medium and low content in bee and bumblebee honey.

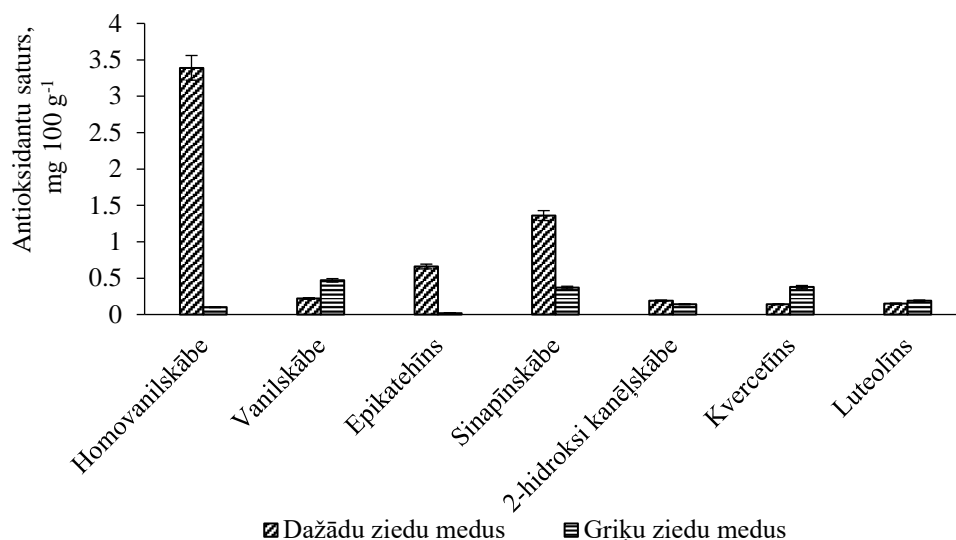
Kā var redzēt 2. attēlā, visbiežāk sastopamie fenolu savienojumi ar vidēju un zemu saturu ir hidroksibenzoskābes atvasinājumi, hlorogēnskābe, p-kumarskābe un rutīns. Visu 2. attēlā iekļauto fenolu savienojumu saturs bišu medū ir ievērojami lielāks nekā savienojumu saturs kameņu medū. Kā redzams 2. attēlā, hidroksibenzoskābju saturs ir mainīgs atkarībā no medus šķirnes. Savukārt kameņu medū noteiktajiem savienojumiem ir ievērojami mazāks saturs.

Ir savienojumi, kuriem analizētajā kameņu medus paraugā ir krietni lielāks saturs. Tie ir ceriņskābe un kempferols. Analizēto savienojumu saturu kameņu medū atsevišķos gadījumos ietekmē arī izmantotais ekstrakcijas veids.

Ir identificēti fenolu savienojumi, kuri ir atrodami tikai bišu medū. To apliecina 3. attēlā ietvertā informācija.

3. attēlā apkopotie dati apstiprina faktu, ka bišu medū ir identificēta virkne polifenolu, kuru koncentrācija kameņu medū ir vai nu ļoti maza, vai arī tie vispār nav konstatēti.

Polifenolu saturs analizētajos bišu un kameņu medus paraugos ir atkarīgs no augiem, kurus bite vai kamene apmeklē. Kamesnes apmeklē arī augus, kurus neapmeklē bites un otrādi (Madebekin, 2004). Tas arī izskaidro polifenolu satura atšķirības analizētajos paraugos. Kopumā jāņem vērā, ka polifenolu saturs bišu medū ir daudzveidīgāks un vidēji lielāks, izņemot atsevišķus gadījumus.



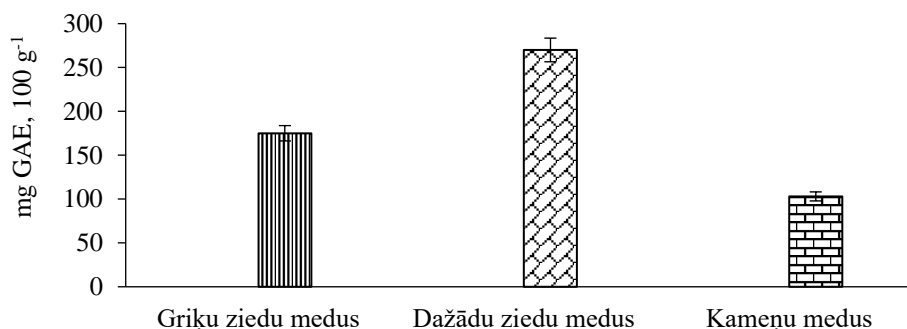
3. att. Bišu medū identificētie polifenoli.

Fig. 3. Detected polyphenols in bee honey.

Vērtējot citu zinātnieku pētījumus par polifenolu saturu bišu medū, jāmin, ka to saturu un daudzveidību būtiski ietekmē reģions. Iegūto skaitlisko mērījumu diapazons ir visai plašs (Maria Lo Dico et al., 2019; Fratianni et al., 2021; Gośliński et al., 2021).

Būtiski ir akcentēt kādu polifenolu, kurš neietilpst nevienā no attēliem, bet kura klātbūtne tika konstatēta tikai kameņu medū. Tā ir kafijskābe. Kafijskābes koncentrācija kameņu medū bija niecīga – 0.07 mg 100 g⁻¹ parauga –, tomēr bišu medus paraugos tā netika identificēta.

Analizētajiem paraugiem tika noteikts arī kopējo fenolu saturs. Kopējo fenolu saturs analizētajos bišu un kameņu medus paraugos parādīts 4. attēlā.



4. att. Kopējais fenolu saturs kameņu un bišu medus paraugos.

Fig. 4. Content of total phenols bee and bumblebee honey.

4. attēlā iekļautie dati apliecina, ka kopējais fenola saturs, tāpat kā vairums antioksidantu saturs, bišu medū ir augstāks nekā kameņu medū. Daudzu zinātnieku veiktie pētījumi liecina, ka kopējais fenolu saturs bišu medū ir ļoti plašā diapazonā, kas aptuveni ir robežās no 100 līdz 600 mg GAE 100 g⁻¹ (Kędzierska-Matysek, 2021; Gośliński et al., 2021).

Secinājumi

1. Nektāraugu botāniskā izcelsme ietekmē fenolu savienojumu saturu bišu medus paraugos.
2. Bišu medū kopumā ir augstāks analizēto antioksidantu saturs, salīdzinot ar kameņu medu.
3. Kameņu un bišu fizioloģiskās uzbūves atšķirības, kā arī atšķirības nektāra pārstrādes procesā izskaidro atsevišķu polifenolu satura atšķirības starp bišu medu un kameņu medu.

Pateicība. Šis darbs tapis ar projekta "Fundamentālie pētījumi Latvijas Lauksaimniecības universitātē" atbalstu (Nr. 3.2.-10/278).

Izmantotā literatūra

1. Augšpole I., Dūma M., Ozola B. (2018). Bioactive compounds in herbal infusions. *Agronomy Research*, Vol. 16(SI2), p. 1322–1330.
2. Bumblebee honey: harm and benefit (in russian). [Tiešsaiste] [skatīts: 2021. g. 28. sept.]. Pieejams: <https://autogear.ru/article/338/915/shmelinyiy-med-vred-i-polza/>.
3. Cinkmanis I., Gailums G., Vucāne S. (2018). Comparative study of dark beer before and after freeze drying rehydration cycle. *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact and Applied Sciences*, Vol. 72(2), p. 123–127.
4. Díaz-Gómez R., Toledo-Araya H., López-Solís R., Obreque-Slier E. (2014). Combined effect of gallic acid and catechin against *Escherichia coli*. *LWT – Food Science and Technology*, Vol. 59(2, part 1), p. 896–900.
5. Fratianni F., Ombra M.N., d’Acierno A., Caputo L., Amato G., De Feo V., Coppola R., Nazzaro F. (2021). Polyphenols Content and In Vitro α -Glycosidase Activity of Different Italian Monofloral Honeys, and Their Effect on Selected Pathogenic and Probiotic Bacteria. *Microorganisms*, Vol. 9(8), p. 1–19.
6. Gośliński M., Nowak D., Szwengiel A. (2021). Multidimensional Comparative Analysis of Bioactive Phenolic Compounds of Honeys of Various Origin. *Antioxidants*, Vol. 10(4), p. 1–14.
7. Kaškoniene V., Maruška A., Kornyšova O., Charczun N., Ligor M., Buszewski B. (2009). Quantitative and qualitative determination of phenolic compounds in honey. *Chemine Technologija*, Vol. 3(52), p. 74–80.
8. Kędzierska-Matysek M., Stryjecka M., Teter A., Skałeczki P., Domaradzki P., Florek M. (2021). Relationships between the Content of Phenolic Compounds and the Antioxidant Activity of Polish Honey Varieties as a Tool for Botanical Discrimination. *Molecules*, Vol. 26(6), p. 1–12.
9. Khalil M.I., Sulaiman S.A., Boukraa L. (2010). Antioxidant Properties of Honey and Its Role in Preventing Health Disorder. *The Open Nutraceuticals Journal*, Vol. 3, p. 6–16.
10. Klavins L., Kviešis J., Klavins M. (2017). Comparison of methods of extraction of phenolic compounds from American cranberry (*Vaccinium macrocarpon* L.) press residues. *Agronomy Research*, Vol. 15(S2), p. 1316–1329.
11. Leonhardt S.D., Blüthgen N. (2012). The same, but different: pollen foraging in honeybee and bumblebee colonies. *Apidologiei*, Vol. 43, p. 449–464.
12. Madebekin I.I. (2004). *Fauna and ecology of bumblebees of agrocenoses of the northeastern part of the volga hill (in Russian)*. Abstract of the thesis for the degree of candidate of biological sciences. State Scientific Institution Research Institute of Beekeeping of the Russian Academy of Agricultural Sciences, 19 p.
13. Maria Lo Dico G., Ulrici A., Pulvirenti A., Cammilleri G., Macaluso A., Vella A., Giaccone V., Cascio G.V., Graci S., Scuto M., Salinaro A.T., Calabrese V., Dico R., Ferrantelli V. (2019). Multivariate statistical analysis of the polyphenols content for the discrimination of honey produced in Sicily (Southern Italy). *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol. 82, p. 103225–103232.
14. Olszowy M. (2019). What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants? *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 144, p. 135–134.
15. Wabaidur S.A., Obbed M.S., Alothman Z.A., Alfari N.A., Badjah-Hadj-Ahmed A.Y., Siddiqui M.R., Altamimi J.Z., Aldayel T.S. (2020). Total phenolic acids and flavonoid contents determination in Yemeni honey of various floral sources: Folin–Ciocalteu and spectrophotometric approach, *Food Science and Technology (Campinas)*, Vol. 40(24), [Tiešsaiste] [skatīts: 2021. g. 5. dec.]. Pieejams: <https://doi.org/10.1590/fst.33119>.
16. Weidenmüller A., Kleineidam C., Tautz J. (2002). Collective control of nest climate parameters in bumblebee colonies. *Animal Behaviour*, Vol. 63(9), p. 1065–1071.
17. Zarins R., Kruma Z., Tomsone L., Kampuse S., Skrabule I., Konosonoka I. H. (2018). Comparison of phenolic compounds and antioxidant activity of fresh and freeze – dried potatoes. *Agronomy Research*, Vol.16(S2), p. 1546–1554.