



Japan
Fund for
Poverty
Reduction



From
the People of Japan

**ХӨДӨӨ АЖ АХУЙН НЭМҮҮ ӨРТГИЙН СҮЛЖЭЭГ ДЭМЖИХ ТЕХНИК
ТУСЛАЛЦААНЫ ТӨСӨЛ ТА-8960 МОН**

ТӨСЛИЙН ТАЙЛАН

2020

**ХӨДӨӨ АЖ АХУЙН НЭМҮҮ ӨРТГИЙН СҮЛЖЭЭГ ДЭМЖИХ ТЕХНИК
ТУСЛАЛЦААНЫ ТӨСӨЛ
ТА-8960 МОН**

ТӨСЛИЙН ТАЙЛАН

Төслийн нэр: Монгол зөгийн балны биологийн онцлог, антиоксидант чанарыг
ТОГТООХ

Санхүүжүүлэгч: АХБ-ны ХАА-н нэмүү өртгийн сүлжээг дэмжих техник
туслалцааны төсөл

Судалгааны төсөл гэрээгээр хэрэгжүүлэгч: Хөдөө Аж Ахуйн Их Сургууль, Мал
эмнэлгийн хүрээлэн, Эм, хор судлалын лаборатори

Судалгааны багийн удирдагч: Т. Ундармаа (Ph.D) , *Б.Бат-Эрдэм*

Гүйцэтгэгчид: *Б.Бат-Эрдэм* Б. Бат-Эрдэм (MSc)
Х. Сэлэнгэ (MSc) *Х. Сэлэнгэ*
Ц. Ундрахбаяр Ц. Ундрахбаяр (MSc)
П. Отгонсугар (MSc) - *ил төлөөлөл Ц. Ундрахбаяр*

Батлагдсан огноо: 2018.06.22

Төслийн тайлант хугацаа: 2018-2019

АГУУЛГА

1. ТОВЧИЛСОН ҮГС	4
2. ҮР ДҮНГИЙН ХУРААНГУЙ	5
3. ОРШИЛ.....	6
4. ЗОРИЛГО, ЗОРИЛТ	7
5. МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ	8
6. ҮР ДҮН, ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ.....	11
7. ДҮГНЭЛТ	18
8. ТАЛАРХАЛ	18
9. ХЭВЛЭГДСЭН ӨГҮҮЛЭЛ	18
10. АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ	18

ТОВЧИЛСОН ҮГС

DPPH	2,2-diphenyl –1-picrylhydrazyl
HPLC	High performance liquid chromatography
IC50	The half maximal inhibitory concentration, 50% дарангуйлах хэмжээ
RNS	Азотын идэвхитэй хэлбэр
ROS	Хүчилтөрөгчийн идэвхитэй хэлбэр
АХБ	Азийн хөгжлийн банк
Витамин	Вит
МЭХ	Мал эмнэлгийн хүрээлэн
НҮХ	Нимгэн үеийн хроматографи
НФл	Нийлбэр флавоноид
НФН	Нийлбэр фенолт нэгдэл
ӨМШХ	Өндөр мэдрэмжит шингэний хроматографийн
ХАА	Хөдөө аж ахуй
ХААИС	Хөдөө аж ахуйн их сургууль

2. ҮР ДҮНГИЙН ХУРААНГУЙ

Монгол зөгийн балны антиоксидант идэвх болон зарим агуулга

Зөгийн балны антиоксидант идэвхийн гол хүчин зүйл нь түүнд агуулагдах фенолт нэгдлүүд ба шууд хамааралтай байдаг. Зөгийн балын антиоксидант идэвхийг тодорхойлохын тулд бид нимгэн үеийн хроматографи (НҮХ), нийлбэр фенолт нэгдэл (НФН), нийлбэр флавоноид (НФл), витамин А, Е, С зэрэг антиоксидант идэвх үзүүлдэг нэгдлүүд болон К, Са, Fe, Zn зэрэг эрдэст бодисуудыг 4 байгуулгын нийт 10 зөгийн балны бүтээгдхүүнд шинжилж дүгнэсэн.

Туршилтын нийт дээжнүүдээс гурвалжин будаа, бэрцэцэг, мангир, ганга цэцэгсийн балнууд өндөр сайн үзүүлэлтүүд үзүүлсэн. Гурвалжин будааны бал НФН 2.79 мг/г, НФл 0.18 мг/г, витамин Е 1.27 мкг/г үзүүлэлттэйгээр хамгийн өндөр дүн үзүүлсэн; ганга цэцгийн бал НФН 1.98 мг/г, НФл 0.16 мг/г, витамин С 6.41 мкг/г, витамин А 0.92 мкг/г болон DPPH чөлөөт радикалыг 50% дарангуйлах хэмжээ DPPH IC50% 32.18 мг/мл зэрэг өндөр үзүүлэлт харуулсан. DPPH IC50% үзүүлэлт бага байх тусмаа илүү сайн утгыг агуулах ба бэрцэцэг мангирын бал 31.53 мг/мл, витамин Е 0.94 мкг/г байгаа нь хамгийн сайн үзүүлэлт байсан.

Эрдэс бодисын хувьд К 6566 мг/л, Са 5688 мг/л хэмжээтэй ганга цэцгийн баланд хамгийн ихээр агуулагдсан дүн гарсан бол Fe 2294 мг/л рапсын баланд, Zn 748 мг/л олон цэцэгсийн баланд агуулагдаж байгаа нь тогтоогдлоо.

Энэхүү судалгаа нь Монгол орны байгалийн бэлчээрийн болон таримал ургамлаас хураасан олон нэр төрлийн зөгийн баланд антиоксидант шинж чанарыг судалсан анхны нарийн судалгаа болсон. Судалгааны үр дүнд харьцангуй өндөр антиоксидант идэвхтэй бүтээгдхүүнүүд олон байснаас гурвалжин будаа, бэрцэцэг, мангир, ганга цэцэгсийн балнууд хамгийн өндөр антиоксидант идэвхитэй нэгдлүүд агуулж, өндөр антиоксидант идэвх үзүүлсэн байна. Бидний судалгааны ажил хамтран ажилласан албан байгууллагуудад зөгийн балны чанараа сайжруулахад чиглэгдсэн болно.

3. Оршил

Зөгийн бал үнэт бүтээгдхүүн

Зөгийн бал нь эрт дээр үеэс Хятад, Грек болон Ромын эзэнт гүрний уламжлалт эмнэлэгт өргөнөөр хэрэглэгдэж ирсэн байгалийн гаралтай нүүрс уснаас бүрдсэн бүтээгдхүүн юм [1,2]. Агууламжийн хувьд 20% уснаас гадна өндөр идэвхтэй микромолекулууд агуулдаг. Бал нь уураг, фермент (инвертаза, глюкоз-оксидаза, каталаза, фосфатаза), нүүрс ус, органик хүчлүүд (глюконы хүчил, цууны хүчил) липид, витаминаас гадна хоёрдагч метаболитууд болох микро молекулууд (фенолын хүчлүүд, флавоноидууд), каротеноид төст бодисууд болон эрдэст бодисууд агуулдаг байна [3].

Зөгийн бал нь антиоксидант, бактерийн эсрэг, үрэвслийн эсрэг, шарх эдгээх болон чихрийн шижингийн үед цусан дахь сахарын хэмжээг тогтворжуулах зэрэг өргөн хүрээний идэвх агуулдаг үнэт бүтээгдхүүн юм [4]. Балны онцлог биологийн идэвхитэй нэгдлүүдийн агууламж нь ургамлын бүрдэл, газар зүйн байршил болон боловсруулалтын аргаас хамааран харилцан адилгүй байна [3]. Олон улсын зах зээлд өнцөг бүрийн улсын олон компаниудын зөгийн бал, жилий нь сайтар судлагдаж худалдаанд нэвтэрсэн байдаг. Үүний тод жишээ нь Шинэ Зеланд улсын Манука зөгийн бал бөгөөд сайтар судлагдаж өндөр үнэ цэнэ агуулсан зах зээлд эрэлттэй бүтээгдхүүн болсон байдаг [5].

Антиоксидантууд чөлөөт радикалын эсрэг идэвх

Чөлөөт радикалууд болох хүчилтөрөгч, азотын идэвхитэй хэлбэрүүд ихэссэн үед болон ферментийн, ферментийн бус антиоксидант хамгаалалтын дутмагшлын үед бие организмд хортой нөлөө тод илэрдэг байна. Чөлөөт радикалуудыг саармагжуулах үйл явц нь нарийн төвөгтэй үйлдэл байдаг ба олон хүчин зүйлээс шалтгаалдаг ч бие организмын хор тайлах гол механизмуудын нэг юм [6]. Исэлдэлтийн гэмтэл нь зүрх судас, мэдрэлийн гаралтай эмгэг болон хавдрын эх үүсвэр болдог. Түүнчлэн хүний хөгшрөлтийг түргэсэхээс гадна олон өвчнүүдийн шалтгаан болдог байна [7]. Тиймээс хүмүүс өдөр тутмын хүнсэндээ антиоксидант идэвхтэй хүнс хэрэглэж бие махбодоо хорт нэгдлүүдээс хамгаалах хэрэгтэй юм.

Исэлдэлтийн стресс гэх нэр томьёо нь эдийн түвшинд эсрэг тэсрэгийн процесс өөрчлөлтөд орж чөлөөт радикал ихээр үүсэн биеийн хоргүйжүүлэх механизм хортой нэгдлүүдийг бүрэн саармагжуулж чадахгүй болсон үед хэрэглэгдэнэ [8]. Чөлөөт радикалын илүүдэл нь эд эсийн молекулуудтай харилцан үйлчлэлцэж уураг, мембран болон нүклеин хүчлүүдийг гэмтээдэг. Эдгээр үйл явцын үр дүнд илүү их гэмтэл явагдаж, чөлөөт радикалууд үүсэн шат дараалсан гэмтэл эвдрэлүүд үүсдэг байна. Хүчилтөрөгч, азотын идэвхитэй хэлбэрүүд нь хортой нөлөө үзүүлдэг ба биологийн хохирол учруулдаг учир хүчил төрөгчийн болон азотын исэлдэлтийн стресс гэдэг байна [9, 10, 11].

Хүний бие организмын өөрийн хамгаалалтын систем чөлөөт радикалыг саармагжуулж чадахгүй болсон үед хоол хүнс болон био бэлдмэлийн антиоксидант нэгдлүүд тусалдаг байна. Зөгийн бал нь фруктоз, глюкоз нүүрс уснаас гадна хоёрдагч метаболитууд болох фенолг нэгдэл, флавоноид, каротеноид; аскорбины хүчил альфа-токоферол зэрэг витамин;

глюкоз оксидаза, каталаза ферментууд агуулдаг олон үйлдэлт хүнсний бүтээгдхүүн юм [12]. Эдгээр бага хэмжээгээр агуулагдах нэгдлүүд нь зөгийн балын антиоксидант идэвхийг бүрдүүлдэг ба эрдэмтдийн олон судалгааны ажлуудад фенолт нэгдэл, флавоноидууд антиоксидант шинж чанартай шууд хамааралтай болохыг олж тогтоосон байдаг [3, 4, 12, 13].

Монголын зөгийн балны зах зээл

Сүүлийн жилүүдэд Монголын зөгийн аж ахуй хурдацтай өсөн хөгжиж байгаа ба үндэсний үйлдвэрийн олон бүтээгдхүүнүүд зах зээлд шинээр ихээр нэвтэрч байна. Олон компаниуд дотоодын болон гадаад зах зээлд бүтээгдхүүнүүдээ борлуулж эхэлсэн. Гэсэн хэдий ч, Монголын зөгийн балыг шинжлэх ухааны үндэстэй судласан ажлууд ховор олдох ба үйлдвэрлэгчид болон хэрэглэгчид үнэн зөв мэдээллээр сайн хангагдахгүй байна. Тиймээс үндэсний үйлдвэрлэгчдийн газар зүйн байрлалаас бүрдсэн балны антиоксидант идэвхийн судалгааг гүйцэтгэх нь зүй ёсны хэрэг билээ. Энэхүү судалгааны үр дүн нь Монголын зах зээлд борлуулагдаж буй сайн бүтээгдхүүнүүдийг тодорхойлохоос гадна био үйлдэлтэй бүтээгдхүүний үнэт чанарыг сайжруулахад оршино.

4. ЗОРИЛГО, ЗОРИЛТ

Төсөлд оролцогч аж ахуйн нэгжүүдэд үйлдвэрлэсэн балны биологийн идэвхит бодисууд, антиоксидант чанарыг тогтоох судалгаа хийх зорилгыг хэрэгжүүлэхийн тулд дараах зорилтуудыг тавьж ажилласан болно. Үүнд:

1. Судалгааны загварыг гаргаж МЭХ-ийн эрдмийн зөвлөлөөр батлуулах
2. Фенолт нэгдлүүдийн НҮХ-ийн аргаар тодорхойлох
3. Нийлбэр фенолт нэгдлийг (НФН) тодорхойлох
4. Нийлбэр флавоноидуудыг (НФл) тодорхойлох
5. DPPH радикалыг саармагжуулах идэвх аргаар антиоксидант идэвхийг тодорхойлох
6. Витамин А, Е, С тогтоох
7. К, Са, Fe, Zn зэрэг эрдэст бодисуудыг тодорхойлох
8. Кверцетин, рутин, спириозид флавоноидуудын тоон тодорхойлолт

5. МАТЕРИАЛ, АРГА ЗҮЙ

Газар зүйн дөрвөн өөр газраас хураасан 4 өөр аж ахуйн нийт 10 нэр төрлийн зөгийн балны дээжийг шинжилгээнд хамруулсан. Пермакультур ХХК-ийн 4 нэр төрлийн бал, Япон улсад бүтээгдхүүнээ экспортоор гаргадаг Михачи ХХК-ийн 3 төрлийн бал, Их Аураг Орд ХХК-ийн 1 төрлийн бал болон МЭХ-ийн Зөгийн эрүүл мэнд, эм бэлдмэлийн судалгааны төвөөс 1 балны дээж авч судалгаанд хамруулсан. Монголын цаг агаарын эрс тэрс нөхцөл байдлаас хамааран бид 8 сард цуглуулсан дээжээ баглаа савтайн -4°C харанхуй нөхцөлд хадгалсан.

Хүснэгт 1. Монголын зөгийн балын дээж.

Дээжний дугаар	Аж ахуйн нэгж	Байршил	Газрын зургийн координатууд		Цуглуулсан ургамал
			Өргөрөг	Уртраг	
S1	Пермакультур ХХК	Монголын хойд бүс нутаг, Сэлэнгэ аймаг, Ерөө сум	49° 40' 16.80"	106° 44' 49.50"	Гурвалжин будаа
S2					Олон цэцэгс
S3					Хөвөн оройт
S4					Бэрцэцэг, мангир
S5	Михачи ХХК	Монголын хойд бүс нутаг, Сэлэнгэ аймаг, Алтанбулаг сум	50° 17' 54.18"	106° 47' 27.00"	Ганга цэцэг
S6					Өмхий шимэлдэг
S7					Өмхий шимэлдэг
S8	Их Аураг Орд ХХК	Төв бүс нутаг, Төв аймаг, Эрдэнэ сум	47° 43' 5.39"	107° 47' 26.99"	Рапс
S9					Хөвөн оройт, хунчир, хошоонгор, шимтэглээ, боролзгоно, хорс (шар), сөд, мангир, бэр цэцэг, гээг согсоолж
S10	Зөгийн эрүүл мэнд, эм бэлдмэлийн судалгааны төв, МЭХ	Төв бүс нутаг, нийслэл Улаанбаатар хот	47° 55' 16.4280"	106° 55' 6.8016"	Олон цэцэгс

Арга зүй

Нимгэн үеийн хроматографи (НҮХ)

НҮХ-ийг хлороформ метанолын 9:1 харьцаатай системээр гүйлгэсэн ба 60 F254, Germany загварын силика гель хэрэглэсэн. Үр дүнг 365 нм долгионы уртад болон 5% H₂SO₄ цацаж шинжилсэн болно.

Нийлбэр фенолт нэгдэл (НФН)

НФН-ийг Socha нарын 2009 оны Folin-Ciocalteu-ийн спектрофотометрийн аргад бага зэргийн өөрчлөлт оруулан шинжилж тогтоосон [14]. Зөгийн балны дээжээ 7.5% Na₂CO₃-тэй хольж 2 минутын туршид хольсны дараагаар 10% Folin-Ciocalteu урвалжаа нэмсэн. Уусмалаа 50°C хэмд 5 минутын турш усан баннад байлгасны дараагаар 765 нм-ийн гэрлийн уртад хэмжилт хийсэн.

Стандарт бодис болгож Галлын хүчил ашиглан стандарт муруй байгуулж НФН-ийг жишиж тооцсон байгаа. Энэхүү арга нь фосфор-вольфраматфосфомолибдатын нэгдлийг фенолт нэгдлүүд нь цэнхэр өнгийн нэгдэл болгон задалдаг шинж чанар дээр суурилсан арга зүй юм. НФН-ийг галлын хүчилтэй тэнцэхүйц мг/г болон стандарт хазайлтаар илэрхийлэгдсэн байгаа.

Нийлбэр флавоноид (НФл)

НФл-ын нийт хэмжээг Zhishen нарын 1999 оны AlCl₃-ын аргаар тодорхойлсон [15]. Стандарт бодисоор рутиныг ашигласан ба жиших муруй байгуулсан учир НФл-ын хэмжээ рутинтай тэнцэхүйц мг/г концентрацаар илэрхийлэгдсэн. AlCl₃*6H₂O болон 120 мкмоль CH₃COONa-ийг балны дээжтэй хольж 30 минутын туршид өрөөний хэмд харанхуй нөхцөлд сайтар холигч багажаар хольсон. Үр дүнг 415нм-ийн гэрлийн уртад хэмжиж тодорхойлсон.

DPPH радикалыг саармагжуулах идэвх

Зөгийн балын DPPH радикалыг саармагжуулах идэвхийг Huang нарын 2005 оны аргад бага зэргийн өөрчлөлт оруулан гүйцэтгэсэн бөгөөд эерэг стандарт харьцуулалтаар рутин бодисыг авсан. Зөгийн балын дээжийг олон хэмжээтэйгээр авч DPPH бодистой 30 минутын турш харанхуй орчинд сайтар хольсны дараагаар 517нм-ийн гэрлийн уртад хэмжиж үзсэн. Дээж бүр дээр гурав дахиж туршилтууд гүйцэтгэсэн ба нил ягаан өнгө шаргал болох өнгөний хувирал дээр тулгуурласан арга бөгөөд үр дүнг саармагжуулах хувиар бодож гаргасан. DPPH чөлөөг радикалыг 50% дарангуйлах концентрацийг статистик боловсруулалтын GraphPad Prism 7 программаар бодож олсон.

Өндөр мэдрэмжит шингэний хроматографийн аргаар витамин С тодорхойлох

Витамин С нь өндөр антиоксидант идэвхтэй ба ӨМШХ аргаар өндөр нарийвчлалтай тодорхойлсон. Зөгийн балын С витамин хэмжээг Мэргэжлийн хяналтын газрын харьяа Хүнсний аюулгүй байдлын үндэсний лавлагаа лабораторид хийж гүйцэтгэсэн.

Колориметрийн аргаар витамин А, Е тодорхойлох

Витамин А, Е-ийн шинжилгээг хийхдээ зөгийн балын дээжийг 1:1 харьцаагаар этанолтой хольж дараа нь 64% азотын хүчил дээр хийж халуун баннд байлгасан. Түүний дараагаар дээжийг 22°C хүртэл хөргөсний дараагаар гэрэлгүй орчинд 5 мл хүртэл этилийн спиртээр дүүргэж 470 нм-ийн уртад гэрлийн шингээлтийг хэмжин тодорхойлсон. Витамин А-г тодорхойлоход стандарт болгож ретинил палмитат хэрэглэсэн бол витамин Е-г тодорхойлоход альфа токоферол ацетат ашиглан жиших муруй байгуулан тодорхойлсон ба үр дүн мкг/г хэмжээгээр хэмжигдэнэ.

К, Са, Fe, Zn эрдэс тодорхойлох

Эрдэс бодисуудыг бүрэн ойлтын рентген флуоресценцийн спектрометрийн аргаар Цөмийн судалгааны төвд тодорхойлуулсан. 100 мкл зөгийн балын дээжийг 890 мкл нэрсэн усанд уусгаж 10мкл галлын уусмал нэмж хэмжилт хийсэн ба үр дүн мг/л хэмжээгээр гарсан.

ӨМШХ аргаар кверцетин, рутин, спириозид фенолт нэгдлүүдийг тодорхойлох

Өндөр антиоксидант идэвхтэй кверцетин, рутин, спириозид фенолт нэгдлүүдийг Шинжлэх ухаан технологийн их сургуулийн Хүнсний инженер биотехнологийн сургуульд ӨМШХ-ийн аргаар тодорхойлуулсан.

6. ҮР ДҮН БА ШҮҮН ХЭЛЭЛЦЭХҮЙ

Зөгийн балны химийн нэгдлийн агууламж нь олон зүйлээс шалтгаалах бөгөөд гол зүйлүүдийн нэг нь ургамлын бүрдэл юм. НҮХ хроматографийн 365 нм-ийн гэрлийн уртын дүнгээр 2-3 төрлийн флавоноидууд илэрсэн (Зураг 1). Бүх судалгааны дээжинд фенолт нэгдлүүд илэрсэн ба НФН-ийн хамгийн өндөр үзүүлэлтүүд S1 2.79мг/г, S5 1.98 мг/г дээжүүдэд доорхи хэмжээтэй гарсан байна. НФл-ийн хувьд S1, S5 дээжүүдэд 0.18 мг/г болон 0.16 мг/г хэмжээтэй гарсан (Хүснэгт 2). Гурвалжин будааны бал болох S1 дээжны нийлбэр фенолт нэгдэл их гарсанаас гадна рутинтэй бүтэц ойролцоо флавоноид ихээр агуулагдаж байгаа нь гурвалжин будааны навч үндсэнд рутин их хэмжээгээр агуулагддагтай холбоотой [17]. Дэлхийд алдартай Шинэ зеландын Манука зөгийн бал НФН 0.89 мг/г агуулдаг байна. НФл нэгдлийн хувьд катехин, кверцетин, рутин зэрэг олон төрлийн нэгдлийг стандарт бодис болгож ашигладаг учир харицуулалт хийхэд хүндрэлтэй байдаг.

Антиоксидант идэвхийг DPPH радикалыг саармагжуулах идэвхийн аргаар тодорхойлсон ба байгалийн гаралтай дээжүүдэд антиоксидант үздэг нийтэд дэргэрсэн арга юм. Бид туршилтандаа зөгийн балны дээжийг 50, 100, 150, 200, 250 мг/мл-ээр найруулж туршилтаа тавьсан. Бүх туршилтын дээжнүүд концентрацийн хамааралтай антиоксидант идэвх үзүүлсэн ба хамгийн өндөр идэвхийг дийлэнх дээжүүд 250 мг/мл концентрацид үзүүлсэн. Эмийн ургамал болох ганга цэцгийн балаар хийгдсэн S5 дээж 66.68%-ийн үзүүлэлттэйгаар хамгийн өндөр идэвх үзүүлсэн бол S1 болох гурвалжин будааны дээж 66.28%-ийн ижил түвшний өндөр үзүүлэлт үзүүлсэн байна (Хүснэгт 2). IC50 үзүүлэлт нь чөлөөт радикалыг (жишээ нь DPPH) 50% бууруулах хэмжээг илэрхийлдэг ба бага дүнтэй байх тусмаа илүү өндөр антиоксидант идэвхтэй байдаг. S4, S5 дээжнүүд 31.53, 32.18 мг/мл хэмжээтэйгээр хамгийн өндөр үзүүлэлт үзүүлсэн байна (Хүснэгт 2). Грек улсын Тессалигийн их сургуулийн Грек эрдэмтдийн дүнгээр Олимп уулын зөгийн балнууд IC50 10 мг/мл-ээс 110 мг/мл хүртэл антиоксидант идэвх үзүүлсэн байдаг бол сайн судлагдсан Манука балын хувьд IC50 нь 68 мг/мл байдаг байна [19]. Олон улсын хамгийн шилдэг бүтээгдхүүнүүдтэй Монголын зөгийн балнуудыг харьцуулахад харьцангуй өндөр антиоксидант идэвхтэй байна.

Витамин А, Е, С нь өндөр антиоксидант идэвхи үзүүлдэг ба вит С баланд багагүй хэмжээгээр агуулагддаг бол вит [23] А, Е-ийн агууламжийн судалгаа бага хийгдсэн байдаг. Тосонд уусдаг вит А болон түүний сууриуд нь полиен хэсгүүдээс бүрдсэн усанд уусдаггүй холбоосоор холбогддог ба дан хүчилтөрөгчийн молекулийг саармагжуулж пероксидын радикалуудыг тогтворжуулдаг учир антиоксидант идэвхтэй байдаг. Вит А, Е нь O_2 хэвийн хэмжээнээс ихэссэн үед исэлддэг байна [20].

Олон цэцэгсийн зөгийн бал S10 дээжний вит А-ийн агууламж хамгийн өндөр 2.07 мкг/г байсан бол S2-ийн агууламж 0.92 мкг/г байсан (Хүснэгт 2).

Тосонд уусдаг вит Е нь олон төрлийн эсийн сигналыг дамжуулахад оролцдог ханаагүй поли тосны хүчлийн урт гинжийг хамгаалдаг үйлдэл үзүүлдэг [21]. Хамгийн өндөр агууламжийн үзүүлэлтийг гурвалжин будааны S1 дээж 1.27мкг/г хэмжээтэйгээр үзүүлсэн байна (Хүснэгт 2).

Усанд уусдаг вит С нь электроны донор бөгөөд саармагжуулах агент юм. Аскорбины хүчил нь 6 нүүрстөрөгчтэй молекулынхаа 2 болон 3 дугаар нүүрстөрөгчийнхөө дундын хос холбоосноосоо 2 электрон нийлүүлдэг байна [22]. Вит С-ийн хамгийн өндөр үзүүлэлт ганга цэцгийн S5 дээжинд 6.41 мкг/г илэрсэн байна (Хүснэгт 2). Зөгийн балын вит С-ийн агууламжийн судалгаа сайтар хийгдсэн байдаг ба газар зүйн байршилаас хамааран харьцангуй дүн гарсан байдаг. Эвкалиптын зөгийн балны дээжинд ӨМШХ-ийн аргаар шинжилгээ хийсэн дүнгээр 2.0-5.8 мкг/г агууламжтай байсан бол цитрус, асфодел, гүзээлзгэний модны балны найрлагад 3,4, 4.4 мкг/г хэмжээтэй харьцангуй өндөр вит С-ийн агууламж бүртгэгдсэн байна [23].

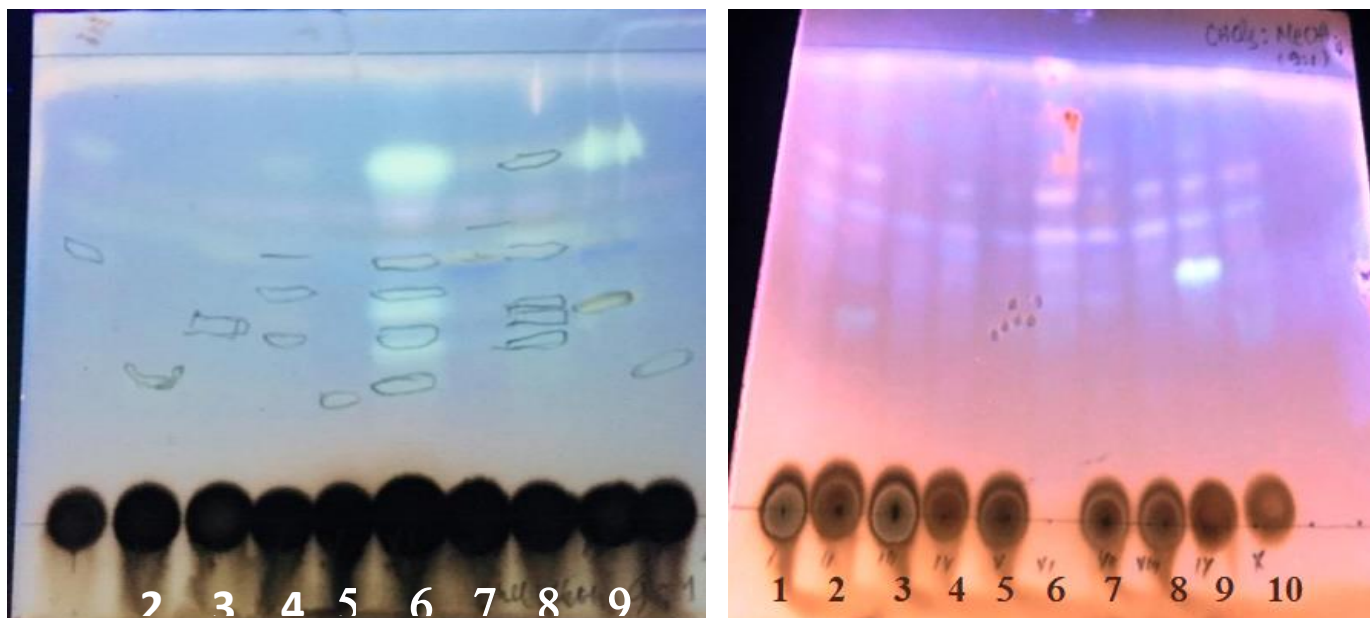
Ганга өвсний вит С-ийн агууламж бусад балнаас илүү өндөр гарсан нь магадгүй ганга өвсний байгалийн нэгдлийн агууламжаар баялаг эмийн ургамал бөгөөд хоол боловсруулалтыг дэмжих, спазмын эсрэг, антибактери, үрэвслийн эсрэг, антисептик, цэр ховхлох үйлчилгээтэйгээс гадна ханиадны эмчилгээнд хэрэглэгддэг байна. Ганга өвсийг уламжлалт эмнэлгүүдэд ходоод гэдэсний болон гуурсан хоолойн эмгэгийн үед өргөнөөр хэрэглэдэг ба гангын эфирийн тос нь хүнс хадгалалтын үед хэрэглэхээс гадна дархлаа дэмжих үйлдэлтэй байдаг [24].

Зөгийн балын эрдэсийн хэмжээ ургамлын төрлөөс шууд хамааралтай байдаг ба бидний судалгаанаас харахад К 6566 мг/л, Са 5688 мг/л үзүүлэлттэйгээр ганга цэцгийн S5 баланд, Fe 2264 мг/л хэмжээтэй рапсын S8 зөгийн баланд, Zn 748 мг/л агууламжтай олон цэцгийн S2 баланд тус тус хамгийн өндөр хариу үзүүлсэн байна.

Кверцетин, рутин, спириозид фенолт нэгдлүүдийг ӨМШХ-ийн аргаар сонгон авсан зөгийн балны дээжүүдэд тодорхойлоход шинээр 2019 онд хураасан балнуудад өндөр агууламжтай гарсан байна. Туршилтанд 2018 оны Михачи ХХК-ийн S5, S6, S7; Пермакультур ХХК-ийн S3; Их аураг орд ХХК-ийн S9; МЭХ S10 дээжүүдээс гадна нэмэлтээр S2, S3, S4 дээжнүүдийн 2019 онд боловсруулсан NS2, NS3, NS9 зөгийн балнууд болон шинээр Лимбэт аяалгуу ХХК-ийн 2018 онд боловсруулсан балыг бүтэн жилийн хугацаанд хадгалсаны дараа 2019 онд онгойлгон ӨМШХ аргаар шинжилгээ хийсэн (Хүснэгт 3).

Хүснэгт 2. Монголын зөгийн балын үзүүлэлтүүд.

Дээжний дугаар	НФН, мг/г	НФл, мг/г	ДРРН, мг/мл	ДРРН IC50%, мг/мл	Вит А, мкг/г	Вит Е, мкг/г	Вит С, мкг/г	К, мг/л	Са, мг/л	Fe, мг/л	Zn, мг/л
S1	2.79±0.11	0.18±0.07	66.28±3.6	44.95	0.65	1.27	0.28	1938	3776	601	459
S2	0.70±0.13	0.12±0.32	55.74±7.1	107.8	0.65	0.33	4.74	414	1894	709	748
S3	0.82±0.09	0.03±0.14	39.41±1.8	81.98	0	0.27	0	924	2216	723	588
S4	2.37±0.17	0.09±0.03	53.54±1.9	31.53	0.78	0.94	0.37	1505	3027	415	622
S5	1.98±0.03	0.16±0.08	66.68±2.4	32.18	0.92	0.21	6.41	6566	5688	710	613
S6	1.43±0.08	0.04±0	49.21±5.9	72.55	0.78	0.48	0.56	4251	4074	578	652
S7	1.0±0.25	0	51.62±5.2	41.96	0	0.67	3.74	-	2283	1011	422
S8	0.60±0.05	0	47.3±7.1	152.5	0.72	0.46	1.81	-	-	2294	309
S9	0.74±0.03	0	38.5±2.7	64.5	0.72	0.42	2.09	-	1781	1109	497
S10	1.11±0.11	0.01±0	62.3±2.9	46.94	2.07	0.46	1.13	4275	4322	759	609



Зураг 1. НҮХ систем хлороформ : Метанол (9:1), 365нм-ийн уртад болон 5% H₂SO₄ цацсан үр дүн.

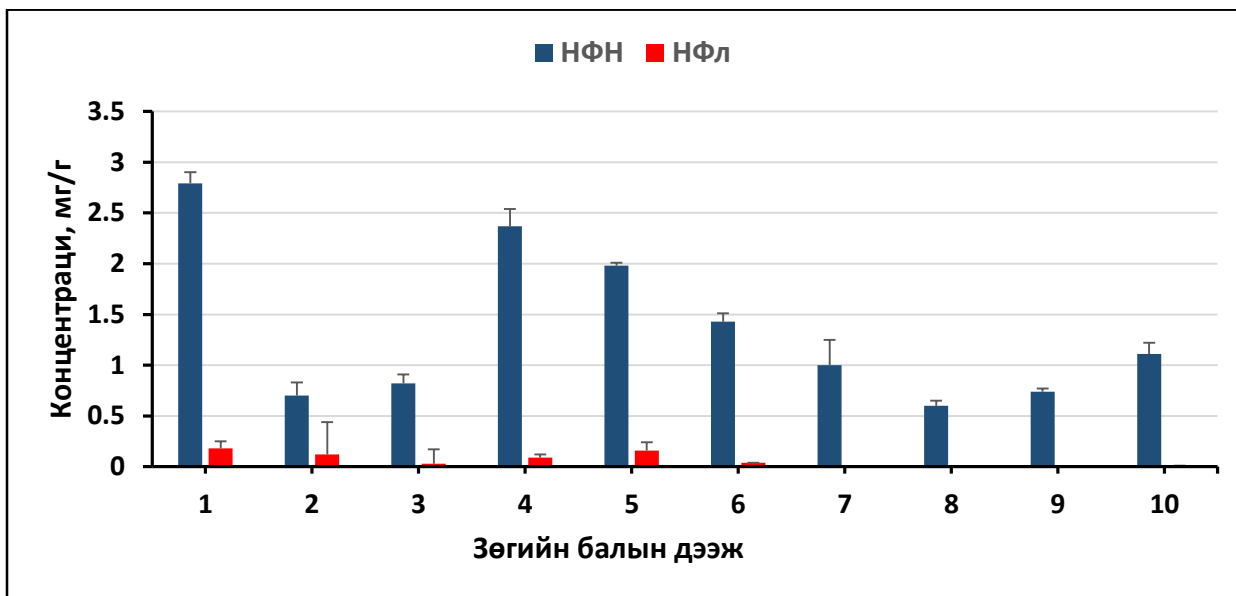


График 1. Зөгийн балын НФН болон НФл-ын дүн

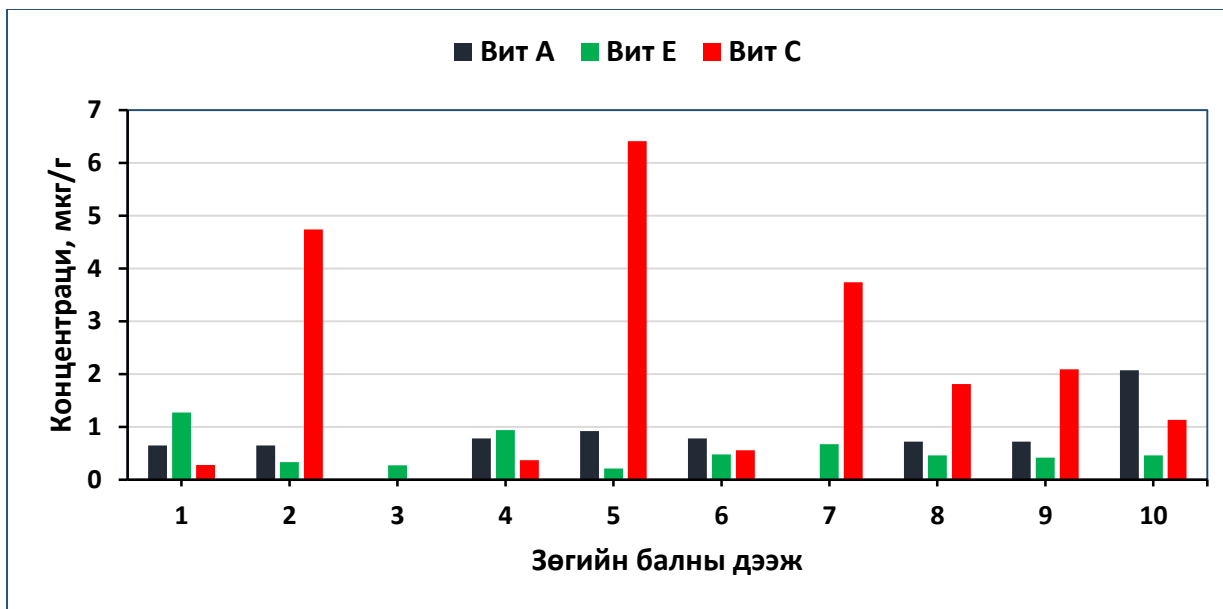


График 2. Зөгийн балын эрдэст бодисын дүн

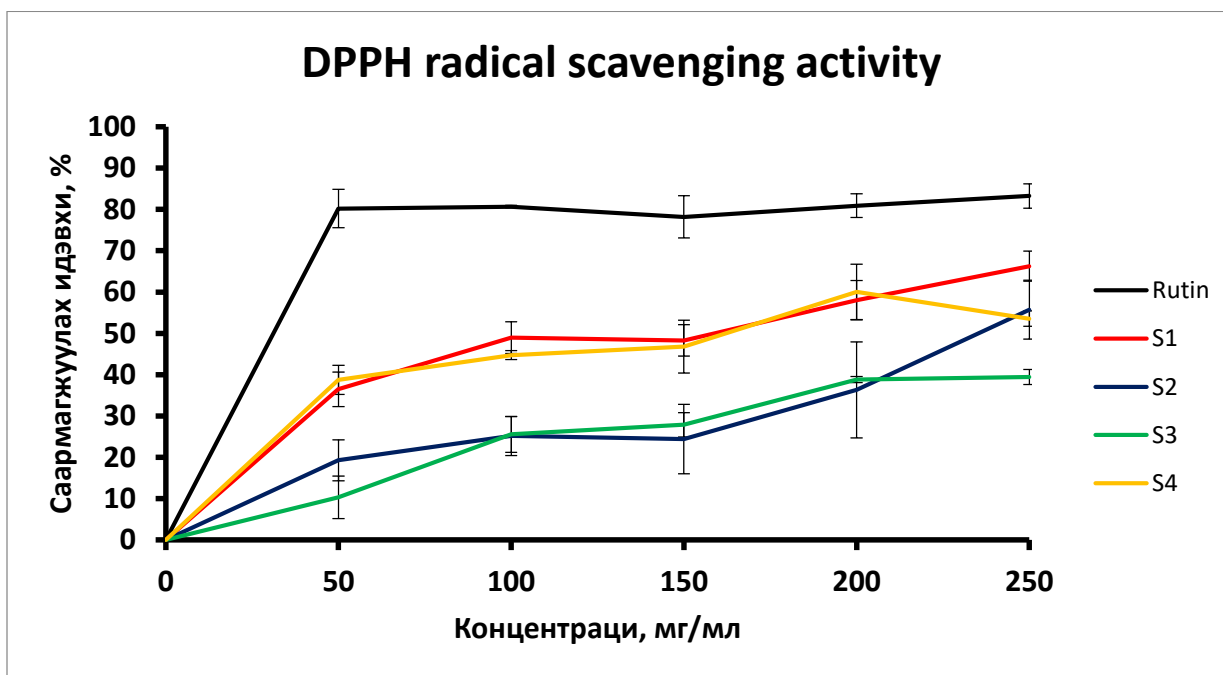


График 3. Пермакультур ХХК-ийн зөгийн балын дээжнүүдийн DPPH радикалыг саармагжуулах идэвхийн дүн.

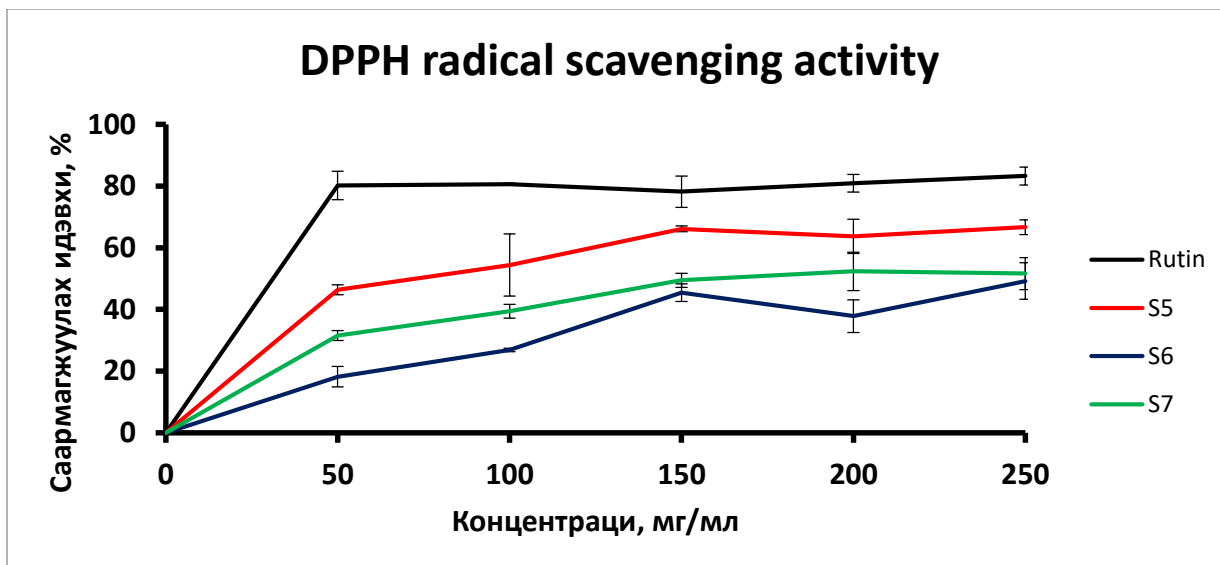


График 4. Михачи ХХК-ийн зөгийн балын дээжнүүдийн DPPH радикалыг саармагжуулах идэвхийн дүн.

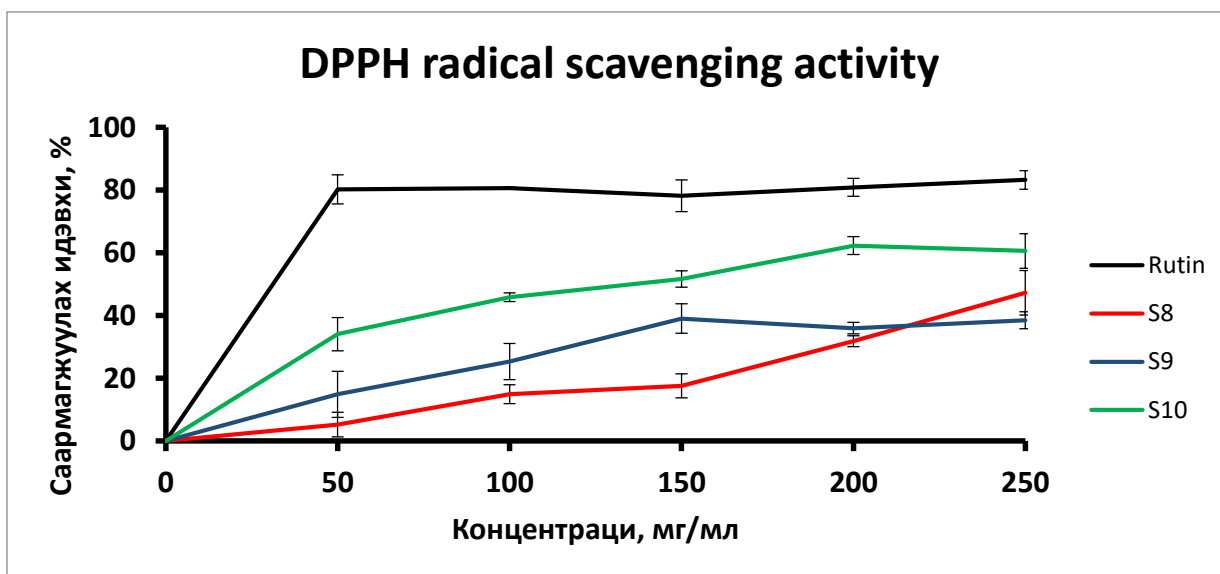


График 5. Их аураг орд ХХК-ийн зөгийн балын дээжнүүдийн DPPH радикалыг саармагжуулах идэвхийн дүн.

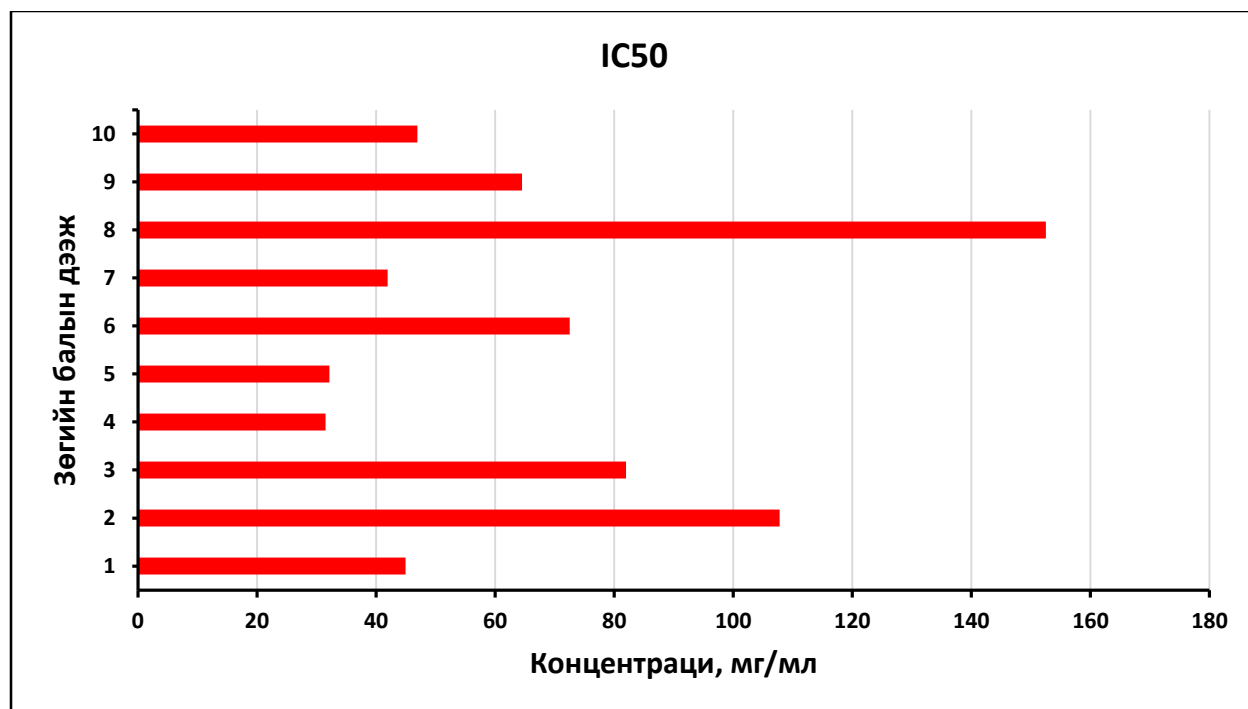


График 6. DPPH IC50-ийн үзүүлэлтүүд.

Хүснэгт 3. Флавоноидын ӨМШХ-өөр судалсан дүн.

Дээж	Кверцетин, мг%	Рутин, мг%	Спирозид, мг%
S5	0.029	-	1.32
S6	-	-	-
S7	-	-	-
S3	0.074	-	1.32
S9	-	3.36	-
S10	-	5.58	-
NS2	-	9.63	-
NS3	1.196	-	-
NS9	-	8.54	-
NS11	0.297	19.14	-

ДҮГНЭЛТ

1. Судалгаанд хамрагдсан зөгийн балнуудын антиоксидант идэвхи харилцан адилгүй байгаа нь газар нутгын ургамлын зүй бүрдээс хамааралтай.
2. Гурвалжин будаа, ганга цэцэгсийн зөгийн бал Манука болон Грекийн сайн чанарын балтай харьцуулахад харьцангуй өндөр антиоксидант идэвхтэй, антиоксидант идэвхтэй нэгдлүүд ихээр агуулсан байна.
3. Судалгаанд хамрагдсан зөгийн баланд агуулагдах кверцетин, рутин, спирозид флавоноидын өндөр агууламж нь байгалийн зэрлэг ургамалын баланд антиоксидант идэвхи өндөр байх ба антиоксидант идэвхи нь хадгалалтын горимоос шууд хамааралтай болохыг харуулж байна.

ТАЛАРХАЛ

Энэхүү судалгааны төслийг санхүүжүүлсэн Азийн хөгжлийн банк, Ядуурлыг бууруулах Япон сангийн хэрэгжүүлж буй Хөдөө аж ахуйн нэмүү өртгийн сүлжээг дэмжих техник туслалцааны ТА-8960 МОН төслийн хамт олонд талархал илэрхийлье.

ХЭВЛЭГДСЭН ӨГҮҮЛЭЛ

B. Bat-Erdem, Kh. Selenge, P. Otgonsugar, Ts. Undrakhbayar, U. Otgonjargal, D. Lhamsaizmaa, Ts. Byambajav, Ya. Ganbold, T. Undarmaa. 2020. The Antioxidant Effect of Mongolian Honey Products. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 5(1): 503-508.

АШИГЛАСАН МАТЕРИАЛ

1. G´omez-Caravaca, A.M., G´omez-Romero, M.G., Arr´aez-Rom´an, D., Segura-Carretero, A. and Fern´andez-Guti´errez, A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharm and Biomed Anal.*, 41:1220-1234.
2. Zumla, A. and Lulat, A. 1989. Honey-a remedy rediscovered. *J R Soc Med.*, 82(7):384-385.
3. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I. and Gan, S.H. 2013. Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. *BMC Complement Altern Med.*, 23;13:43.

4. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I. and Gan, S.H. 2013. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chem Cent J.*, 12(7):138.
5. Battino, M. 2018. Phenolic compounds in Honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9).
6. Durackova, Z. and Gvozdjakova, A. 2008. Oxidants, antioxidants and oxidative stress. Mitochondrial medicine. Book.
7. Dhanalakshmi, S., Srikumar, R., Manikandan, S., Parthasarathy, N. J. and Devi, R. S. 2006. Antioxidant property of Triphala on cold stress induced oxidative stress in experimental rats. *Journal of Health Science*, 52(6):843–847.
8. Trachootham, D., Lu, W., Ogasawara, M. A., Valle, N. R. and Huang, P. 2008. Redox regulation of cell survival. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10(8):1343–1374.
9. Kovacic, P. and Jacintho, J.D. 2001. Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. *Curr Med Chem.*, 8(7):773-796.
10. Ridnour, L. A., Isenberg, J. S., Espey, M. G., Thomas, D. D., Roberts, D. D. and Wink, D. A. 2005. Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proc Natl Acad Sci.*, 102(37):13147–13152.
11. Valko, M., Morris, H., Mazúr, M., Raptá, P. and Bilton, R. F. 2001. Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1527(3):161–166.
12. Baek, Y.S., Kim, Y.J., Baik, M.Y., Kim, D.O. and Lee, H.J. 2015. Total phenolic contents and antioxidant activities of Korean domestic honey from different floral sources. *Food Sci Biotechnol.*, 24(4):1453-1457.
13. Jara-Palacios, M.J., Avila, F.J., Escudero-Gilete, M.L., Pajuelo, A.G., Hereida, F.J., Hernanz, D. and Terrab, A. 2019. Physicochemical properties, colour, chemical composition, and antioxidant activity of Spanish Quercus honeydew honeys. *Eur Food Res Technol.*, 245:2017-2026.
14. Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S. and Fortuna, T. 2009. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoney. *Food Chemistry*, 113(2):568-574.

15. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64:555-559.
16. Huang, D., O., B. and Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.*, 53:1841–1856.
17. Kreft, I., Fabjan, N. and Yasumoto, K. 2006. Rutin content in buckwheat (*fagopyrum esculentum* Moench) food materials and products. *Food chemistry*, 98(3):508-512.
18. Afrin, S., Forbes-Hernandez, T.Y., Gasparri, M., Bompadre, S., Quiles, J.L., Sanna, G., Spano, N., Giampieri, F. and Battino, M. 2017. Strawberry-tree honey induces growth inhibition of human colon cancer cells and increases ROS generation: A comparison with manuka honey. *Int J Mol Sci.*, 18(3):613.
19. Mossialos, D. 2018. Antibacterial and antioxidant activity of different types of honey derived from Mount Olympus in Greece. *Int J Mol Med.*, 42(2):726-734.
20. Palace, V.P., Khaper, N., Qin, Q. and Singal P.K. 1999. Antioxidant potential of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med.*, 26(5-6):746-761.
21. Traber, M.G. and Atkinson, J. 2007. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.*, 43(1):4-15.
22. Levine, M. 2003. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its in disease prevention. *J Am Coll Nutr.*, 22(1):18-35.
23. Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M.I., Piu, P.C., Spano, N. and Sanna, G. 2011. RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, 83(3):924-929.
24. Deng, W.H., Liu, Ke., Cao, Sh., Sun, J., Zhong, B. and Chun, J. 2020. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation. *Molecules*, 25:217.



Japan
Fund for
Poverty
Reduction



From
the People of Japan

**“SUPPORTING AGRICULTURE VALUE CHAIN” TECHNICAL
ASSISTANCE PROJECT (TA-8960 MON)**

PROJECT REPORT

2020

“SUPPORTING AGRICULTURE VALUE CHAIN” TECHNICAL ASSISTANCE PROJECT (TA-8960 MON)

PROJECT REPORT

Project title: The antioxidant effect and unique property of Mongolian honey

Funders: “Supporting agriculture value chain” technical assistance project

Project implementer: Mongolian University of Life Science, Institute of Veterinary Medicine, Laboratory of Pharmacology and Toxicology

Project manager: Ph.D T. Undarmaa , *Б. Бат-Эрдэм*

Researchers: B. Bat-Erdem MSc *Б. Бат-Эрдэм*
Kh. Selenge MSc *Х. Сэлэнгэ*
Ts. Undrakhbayar MSc *Т. Ундрахбаяр*
P. Otgonsugar MSc , *П. Отгонсугар*

Approval date: 22nd of June, 2018

Project completion date: 2018-2019

CONTENT

1. ABBREVIATION.....	4
2. PROJECT RESULT SUMMARY.....	5
3. INTRODUCTION.....	6
4. OBJECTIVES.....	7
5. MATERIALS AND METHODS.....	8
6. RESULTS AND DISCUSSION.....	11
7. CONCLUSION.....	18
8. ACKNOWLEDGMENTS.....	19
9. PUBLISHED ARTICLE.....	19
10. REFERENCE.....	19

1. ABBREVIATION

ADB	Asian development bank
DPPH	2,2-diphenyl –1-picrylhydrazyl
HPLC	High performance liquid chromatography
IC50	The half maximal inhibitory concentration
IVM	Institute of veterinary medicine
MeOH	Methanol
MULS	Mongolian university of life sciences
TFC	Total flavonoid content
TLC	Thin layer chromatography
TPC	Total phenolic content
Vit	Vitamin

2. PROJECT RESULT SUMMARY

Some contents and antioxidant effects of Mongolian honey products

This precious functional food is known for its antioxidant effect and the phenolic compounds are the main factor for its antioxidant activity. Therefore, thin layer chromatography (TLC), phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), vitamins A, E, C which is known for its antioxidant properties and some minerals were examined in a total of 10 honey products from four Mongolian organizations.

Honey products collected from plants like buckwheat, scabiosa species, thymus species, and *allium senescens* presented outstanding results. The highest results in TPC, TFC and vitamin E were detected in honey collected from buckwheat with 2.79 GAE mg/g, 0.18 RE mg/g, and 1.27 µg/g. The honey product derived from thymus species showed significant high data in vitamin C with 6.41 µg/g and the second-highest result in vitamin A with 0.92 µg/g. In TPC, TFC the thymus honey also displayed moderate-high data with 1.98 GAE mg/g, 0.16 RE mg/g and DPPH IC50% was 32.18 mg/ml.

The highest DPPH IC50% record with 31.53 mg/ml and vitamin E content with 0.94 µg/g showed the honey produced using scabiosa species and *allium senescens*. The amount of K, Ca in honey product collected from Thymus spp. showed the highest data with 6566 mg/l and 5688 mg/l, respectively. The highest amount of Fe was detected in canola honey with 2294 mg/l, and Zn 748 mg/l was highest in the multi-floral honey product.

This is the first specialized research on the antioxidant properties of Mongolian honey products derived from the natural pastureland and cultivated pastureland of Mongolia. Our study results will benefit the cooperated companies to improve the quality of their products. The results indicate that some products have moderate-high antioxidant potentials. Among ten honey products, the buckwheat, thymus, scabiosa, and *allium senescens* honey products presented the highest antioxidant activities and have the highest amount of antioxidant compounds. Moreover, the highest data of TPC, TFC and high content of vitamin A, E, C were displayed by these honey products.

3. INTRODUCTION

Honey is a precious product

Honey is a natural carbohydrate product produced by honeybees and has been used in traditional medicines of China, Greece, and the Roman Empire [1,2]. It contains approximately 20% water and important micro constituents. Honey is rich with proteins, enzymes (invertase, glucose-oxidase, catalase, and phosphatases), amino acids, organic acids (gluconic acid, acetic acid), lipids, vitamins (ascorbic acid, niacin, pyridoxine), secondary metabolite micro molecules (phenolic acids, flavonoids), carotenoid-like substances and minerals [3].

This precious product is known for its wide specter of activities including antioxidant, antibacterial, anti-inflammatory, wound healing and antidiabetic effects [4]. The compound concentrations and unique contents of honey can be different based on its plant groups, geographical locations, and product processing [3]. On the international level bee products such as honey and propolis from different regions and companies are studied well and can be purchased around the world. One salient example is New Zeland's Manuka honey, the products have been researched well and have a high value on the global market [5].

Antioxidants VS Free radicals

When there is excessive production of free radicals ROS/RNS and a deficiency of enzymatic or non-enzymatic antioxidant defense, the harmful effects can be seen clearly. The detoxification of ROS/RNS is a complex and complicated process and it depends on different factors, but still, it's important and one of the main processes of detoxification of the organism body [6]. Oxidative damage has been the cause of many diseases, predominantly cardiovascular diseases, neuronal degeneration, and cancer. Oxidative stress also has a negative effect on the human body's aging process and is one of the causes of many diseases [7]. Therefore, it is crucial to use antioxidant functional foods in daily life to protect our bodies against harmful oxidative stresses.

Oxidative stress term used when any alteration in homeostasis followed by an increased release of free radicals, beyond the detoxifying capability of the local tissues [8]. The excessive free radicals interact with different molecules in tissue and cells causing oxidative damage to proteins, membranes, and nucleic acids. During this procedure, more free radicals are produced and the

chain of damage and destruction continues. The free reactive oxidative species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) radicals lead to harmful effects and potential biological damage. Thus, these effects are termed as oxidative stress and nitrosative stress [9, 10, 11].

When human beings' own defensive barrier can not handle free radicals, in help comes antioxidant compounds from food and bio preparations. Honey is a functional food mainly consisted of fructose and glucose, but also rich with secondary metabolites like phenolics, flavonoids, carotenoids; vitamins ascorbic acid, alpha-tocopherol and enzymes like glucose oxidase, catalase [12]. These minor compounds are normally the main effective factors of the antioxidant activity of honey bee. Numerous researches prove that there are correlations and causations between phenolics, flavonoids and antioxidant activities [3,4,12,13].

Mongolian honey market

For the last decades, the Mongolian bee industry is growing fast. The rise of honey bee products made in Mongolia is significantly increased over the years. Many companies are stepping into the bee production field and promoting their goods in both domestic and international markets. However, scientific background data of Mongolian honey is poor, both producers and consumers are not informed with the systematical right information. Therefore, the main goal of the research is to examine the antioxidant activities of Mongolian honey products from several companies, derived from different regions. The research results would identify the best products sold in the Mongolian market and will help increase their commercial value as bio-active food.

4. OBJECTIVES

In order to determine biologically active substances and antioxidant activities of the honey produced by participating organizations, the following objectives were set down. These include:

1. To develop the research design and get approval from IVM academic council
2. Thin layer chromatography (TLC) for phenolics identification
3. Total phenolic content (TPC)
4. Total flavonoid content (TFC)
5. Antioxidant effect by DPPH radical scavenging activity assay (DPPH)
6. Detection of vitamin A, E, C
7. Determination of Minerals (K, Ca, Fe, Zn)
8. Quantity analysis of phenolics quercetin, rutin, spiraeoside in some samples

5. MATERIALS AND METHODS

Materials

Totally 10 samples were acquired from 3 commercial companies and one research center located in 4 different locations with different plant origins. Permaculture LLC provided 4 different products; Mihachi LLC, which exports its products to Japan, supplied 3 honey samples; and Ikh Aurag Ord LLC provided 2 types of honey and the Research center for honeybee health and pharmaceuticals at IVM gave 1 sample for the experiments. Mongolian weather is harsh, therefore all samples were gathered during summertime in August and were stored at -4°C in lightless conditions packaged in their original product bottles.

TABLE 1. MONGOLIAN HONEY SAMPLES.

Sample no.	Organization	Location	Map coordinates		Plant origin
			latitude	longitude	
S1	Permaculture LLC	The northern part of Mongolia, Selenge province, Eruu sum	49° 40'	106° 44'	Buckwheat
S2			16.80"	49.50"	Multiple florae
S3					<i>Chamaenerion angustifolium</i>
S4					<i>Scabiosa spp., Allium senescens L</i>
S5	Mihachi LLC	The northern part of Mongolia, Selenge province, Altanbulag sum	50° 17'	106° 47'	<i>Thymus spp</i>
S6			54.18"	27.00"	<i>Dracocephalum foetidum</i> Bunge
S7					<i>Dracocephalum foetidum</i> Bunge
S8	Ikh Aurag Ord LLC	Central part of Mongolia, Tuv province, Erdene sum	47° 43'	107° 47'	<i>Brassica napus</i> (canola)
S9			5.39"	26.99"	Multiple flora including <i>Scabiosa spp., Astragalus spp., Geranium spp., Trigonium spp., Chamaenerion angustifolium, Sanguisorba officinalis, Allium senescens, Delphinium grandiflorum</i>
S10	Research center for honeybee health and pharmaceuticals, IVM	The central part of Mongolia, Capital city Ulaanbaatar	47° 55'	106° 55'	Multiple florae
			16.4280"	6.8016"	

Methods

Thin layer chromatography

TLC was performed using system Chloroform MeOH with ration 9:1, respectively. The samples were prepared and run on silica gel (60 F254, Germany). Later, the gel was analyzed with 365nm light and with 5% H₂SO₄ sprayed on the gel.

Total phenolics content (TPC)

The TPC was determined by the spectrophotometric Folin-Ciocalteu method described in Socha *et. al.* 2009 with slight modification [14]. Honey samples extracts were mixed with 7.5% Na₂CO₃ and incubated for 2 minutes before adding 10% Folin-Ciocalteu reagent. All mixtures were incubated in dark condition for 5 minutes at 50°C in a water bath and light absorbance was measured at 765 nm. Gallic acid was used as a standard. The total phenolic content described the reduction of the phosphor-wolframatephosphomolybdate complex by phenolics to a blue reduction product. The final data were calculated by comparison between a standard curve from gallic acid. The phenolic content was reported as milligrams of gallic acid equivalents per gram (GAE mg/g) with mean±SD.

Total flavonoids content (TFC)

The TFC in honey samples was measured by the AlCl₃ method described in Zhishen *et. al.* 1999 with slight modification [15]. Rutin was used as a standard, so flavonoid content was calculated, using the calibration curves of rutin and results were expressed as mg of rutin equivalent per gram with mean±SD. Honey samples were mixed with AlCl₃*6H₂O and 120µmol CH₃COONa. The honey extracts were mixed with CH₃COONa and incubated for 30 minutes at room temperature in lightless conditions at the shaker. The absorbance was detected at 415nm. Rutin was used as a standard and TFC was calculated using the calibration curve of rutin and results were expressed as mg/g of rutin equivalent (RE mg/g).

DPPH radical scavenging activity

The effect of honey samples on DPPH radical scavenging was determined as described by Huang *et al.*, 2005 with slight modification [16] and rutin were used as a positive standard. Honey samples were prepared in different concentrations and mixed with DPPH reagent and shook for 30 min at room temperature in dark condition. The absorbance was measured at 517 nm. The results were calculated as a percentage of DPPH discoloration using the equation described in the assay. The experiments were done in triplicate and results were expressed as mean values \pm SD. The IC50 value was analyzed by statistics software GraphPad prism 7.

Determination of vit C content by HPLC

Vit C was selected to be measured due to its high antioxidant effect. The total content of this vitamin was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). The HPLC test was performed at the State professional inspection agency, Mongolia. The content analysis was tested by methods described in Mongolian standards.

Determination of vit A, E by colorimetric assay

The honey samples were mixed with 1:1 ratio water and EtOH were added. Later, the mixture was added to 64% nitric acid and incubated in a hot water bath. After cooling down to 22°C, the mixture was incubated in lightless condition for 15 minutes. EtOH was added up to 5 ml and the solution was measured at 470nm for light absorption.

For the determination of vit A, retinyl palmitate was used as standard and for vit E alpha-tocopherol acetate. The standard curve was created and the total amount of vit A, E was measured in $\mu\text{g/g}$.

Determination of mineral K, Ca, Fe, Zn

The mineral elements were analyzed by Total reflection x-ray fluorescence spectrometry at the Center of Nuclear Research. The total amount of 100 μl honey sample was dissolved to 890 μl dw. Later, 10 μl gallium solution. The result was calculated and presented with mg/l as concentration.

Determination of phenolics quercetin, rutin, spiraeoside

The phenolics with high antioxidant properties quercetin, rutin, and spiraeoside were detected using HPLC at the School of Food Engineering and Biotechnology, The Mongolian University of Science and Technology.

6. RESULTS AND DISCUSSION

The content of honey depends on multiple factors and one of the main factors is the plant origins. All of the studied honey samples were collected from different parts of Mongolian with diverse plant distribution. The TLC illustrated 2-3 different types of phenolic compounds, which colored by green and blue at 365nm light (Figure 1). Products from all organizations contained phenolics compounds and the highest data in TPC were detected in S1 2.79 GAE mg/g and S5 1.98 GAE mg/g. In TFC the same samples showed the best data of 0.18 RE mg/g and 0.16 RE mg/g in S1 and S5, respectively (Table 2). The high amount of TPC and RE flavonoids in S1 is possibly due to the high content of rutin in buckwheat. Flowers of buckwheat contains the highest amount of rutin compared with leaves and stem [17]. The honey product S1 has been collected at buckwheat cropland. The most commercially popular honey product is Manuka honey from New Zealand, which has a TPC of 0.89 GAE mg/g [18]. In TFC determination assay the concentrations calculated using different types of flavonoids such as catechin, quercetin or rutin calibration curves, therefore results may have a high scale and cannot be compared with other honey results.

The antioxidant effect measured by DPPH radical scavenging activity assay. DPPH is an oxidative compound that is commonly used for the study of natural subjects' antioxidant effect. DPPH radical scavenging activity of honey products was tested at 50, 100, 150, 200, and 250 mg/ml concentrations. All samples displayed an increasing antioxidant effect with concentration increase. Most samples showed the highest results at the 250 mg/ml concentration. Honey product S5 honey made of nectars and pollen's from herbaceous plants *Thymus spp.* showed the highest result with 66.68% and S1 honey collected from buckwheat showed the same high result with 66.28% of scavenging activity (Table 2). The IC₅₀% indicates the concentration that reduces 50% of oxidative free radicals, which in our case is DPPH. The lower the IC₅₀ value, the higher the antioxidant activity. The data showed the best samples were S4 and S5 with 31.53 mg/ml and 32.18 mg/ml, respectively (Table 2). In the research lead by Greece scientists Dimitris Mossialos

at the University of Thessaly, Greece the data of Greece honey products collected from Mount Olympus showed an IC₅₀ range of 10 mg/ml up to 110 mg/ml. The well studied New Zeland Manuka honey showed 68 mg/ml of IC₅₀ value [19]. Comparison Mongolian honey products with the best overseas honey presents that our products have moderate high antioxidant effects.

In vitamin content test vitamins A, E, C was selected due to high antioxidant effects. Honey products contain a moderate amount of vitamin C, however, vitamin A and E research is not common research object on honey products. The main antioxidative effect of fat-soluble vitamin A and it's derivatives are connected by a hydrophobic chain of polyene parts that neutralize singlet oxygen and stabilize peroxy radicals. The structures of vitamin A and carotenoids can autoxidize when O₂ tension is increased [20]. The highest content of vitamin A was detected at multi-floral honey sample S10 from the capital city of Mongolia 2.07 µg/g and the second-highest was detected at S2 0.92 µg/g (Table 2).

The fat-soluble vitamin E has a specific function to protect long-chain polyunsaturated fatty acids and preserve them for signaling events in various cells [21]. The best result of 1.27µg/g was presented by S1 honey, which produced by using buckwheat (Table 2). Vitamin C is a water-soluble antioxidant compound due to its electron donor and reducing agent. Ascorbic acid donates two electrons from a double bond between the second and third carbons of the 6- carbon molecule [22]. The vitamin C content was highest in S5 with 6.41 µg/g (Table 2). The study of vitamin C content is widely researched and data are possibly related to floral variance and geographical positions. The examination of vitamin C with HPLC presented that eucalyptus honey showed the highest amount from 2.0-5.8 µg/g. Some honey products collected from citrus, asphodel, and strawberry-tree also showed a moderate-high concentration of vitamin C with 3, 4, 4.4 µg/g, respectively [23].

Comparing with other researches the amount of vitamin C in S5 was high and the reason may be in plant medicinal plant thymus, which is known for its rich natural constituents and multiple benefits. The thymus spp. has digestive, antispasmodic, antimicrobial, antioxidant, antiviral, anti-inflammatory, antiseptic, expectorant activities and used for the treatment of colds. In different traditional medicines, it is used in herbal preparations of gastroenteric and bronchopulmonary

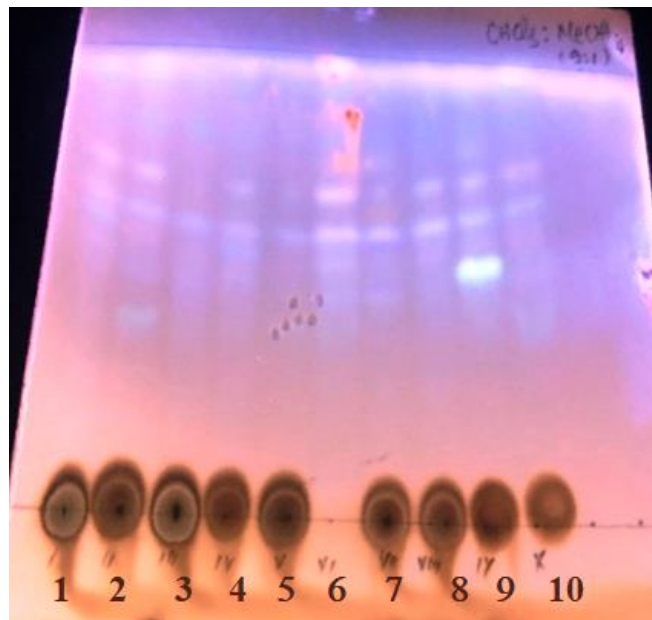
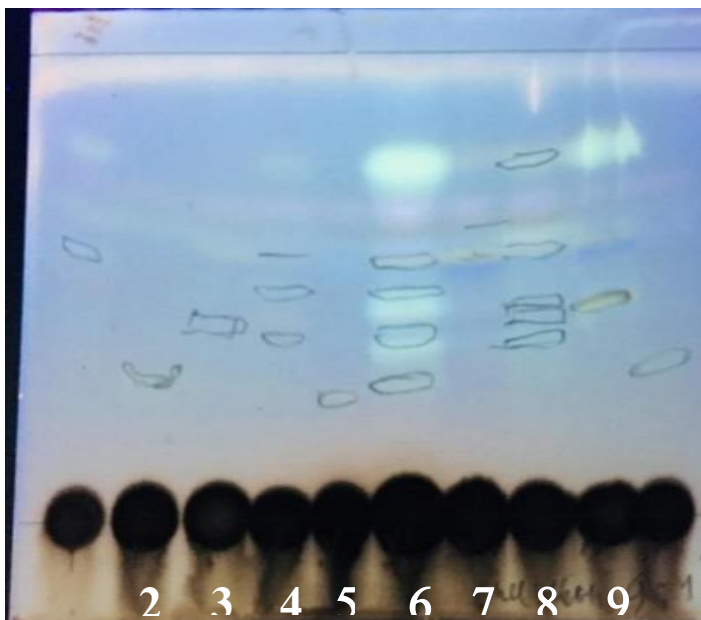
disorders. Thyme oil is one of the best essential oils used as a food preservative and used for immune-stimulating activity [24].

The minerals in honey products directly depend on plant origin. From the results, we can see that *Thymus* spp. honey is the highest in K, Ca with 6566 mg/l and 5688 mg/l, respectively. The canola honey has the highest amount of Fe 2294 mg/l and multi-floral honey S2 presented the highest data in Zn 748 mg/l.

For the screen test of quercetin, rutin, and spiraeoside by HPLC, several honey samples were selected and the newly collected honey samples in 2019 showed higher results (Table 3). All honey samples from Mihachi LLC S5, S6, S7; Permaculture LLC S3; Ikh Aurag Ord LLC S9; IVM S10 were tested for the above-mentioned flavonoids. In addition, new honey samples collected in 2019 of the previous S2, S3, S4 samples NS2, NS3, NS9 and totally new honey sample (NS11) supplied from Limbet Ayalguu LLC in August 2018 and opened in December 2019 just for this experiment were tested with HPLC.

TABLE 2. Statistics of Mongolian honey samples.

Sample no.	TPC, GAE mg/g mean±SD	TFC, RE mg/g mean±SD	DPPH, mg/ml mean±SD sults	DPPH, IC50% mg/ml	Vit A µg/g	Vit E µg/g	Vit C µg/g	K, mg/l	Ca, mg/l	Fe, mg/l	Zn, mg/l
1	2.79±0.11	0.18±0.07	66.28±3.6	44.95	0.65	1.27	0.28	1938	3776	601	459
2	0.70±0.13	0.12±0.32	55.74±7.1	107.8	0.65	0.33	4.74	414	1894	709	748
3	0.82±0.09	0.03±0.14	39.41±1.8	81.98	0	0.27	0	924	2216	723	588
4	2.37±0.17	0.09±0.03	53.54±1.9	31.53	0.78	0.94	0.37	1505	3027	415	622
5	1.98±0.03	0.16±0.08	66.68±2.4	32.18	0.92	0.21	6.41	6566	5688	710	613
6	1.43±0.08	0.04±0	49.21±5.9	72.55	0.78	0.48	0.56	4251	4074	578	652
7	1.0±0.25	0	51.62±5.2	41.96	0	0.67	3.74	-	2283	1011	422
8	0.60±0.05	0	47.3±7.1	152.5	0.72	0.46	1.81	-	-	2294	309
9	0.74±0.03	0	38.5±2.7	64.5	0.72	0.42	2.09	-	1781	1109	497
10	1.11±0.11	0.01±0	62.3±2.9	46.94	2.07	0.46	1.13	4275	4322	759	609



F
I
G
U
R
E

1
.

T
L
C

r
e
s
u
l
t
s

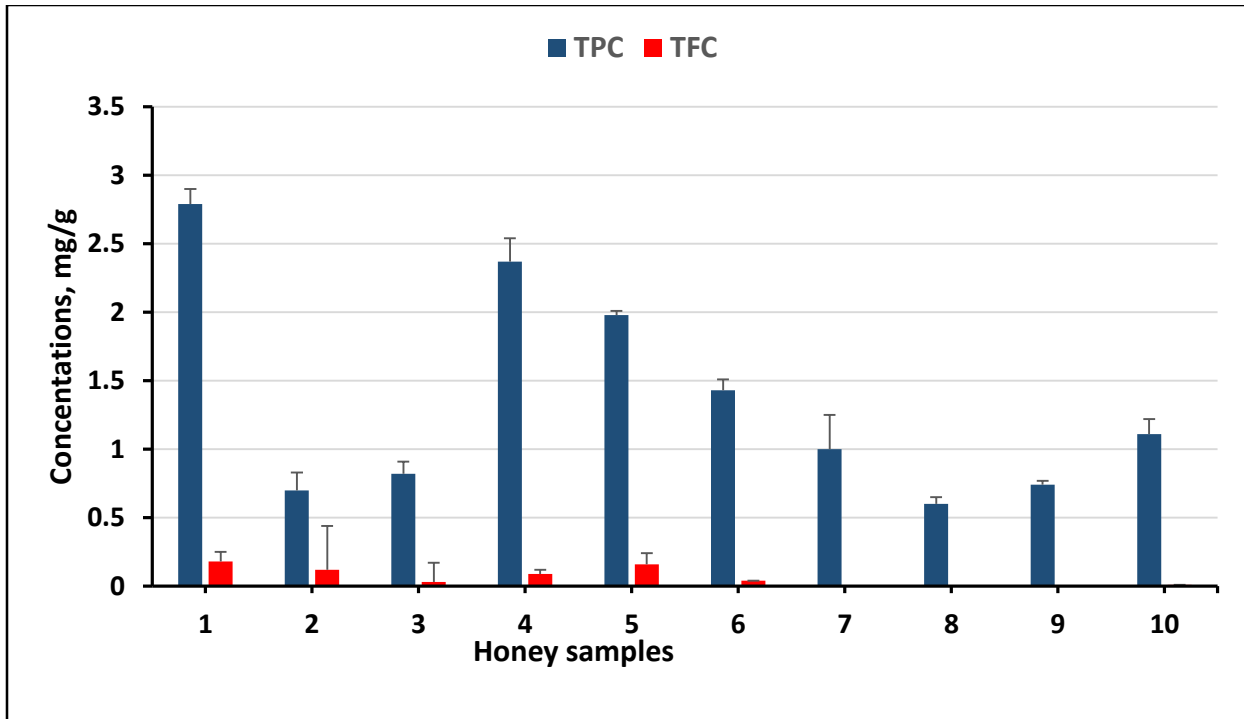


FIGURE 2. TPC and TFC of honey samples.

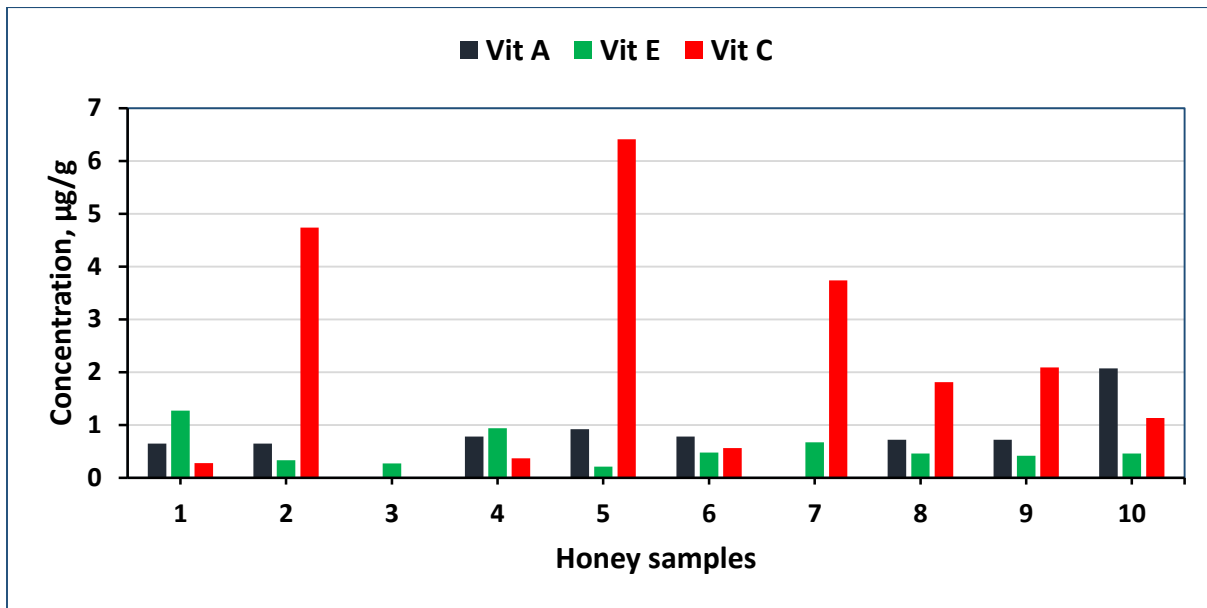


FIGURE 3. Vitamins of honey samples.

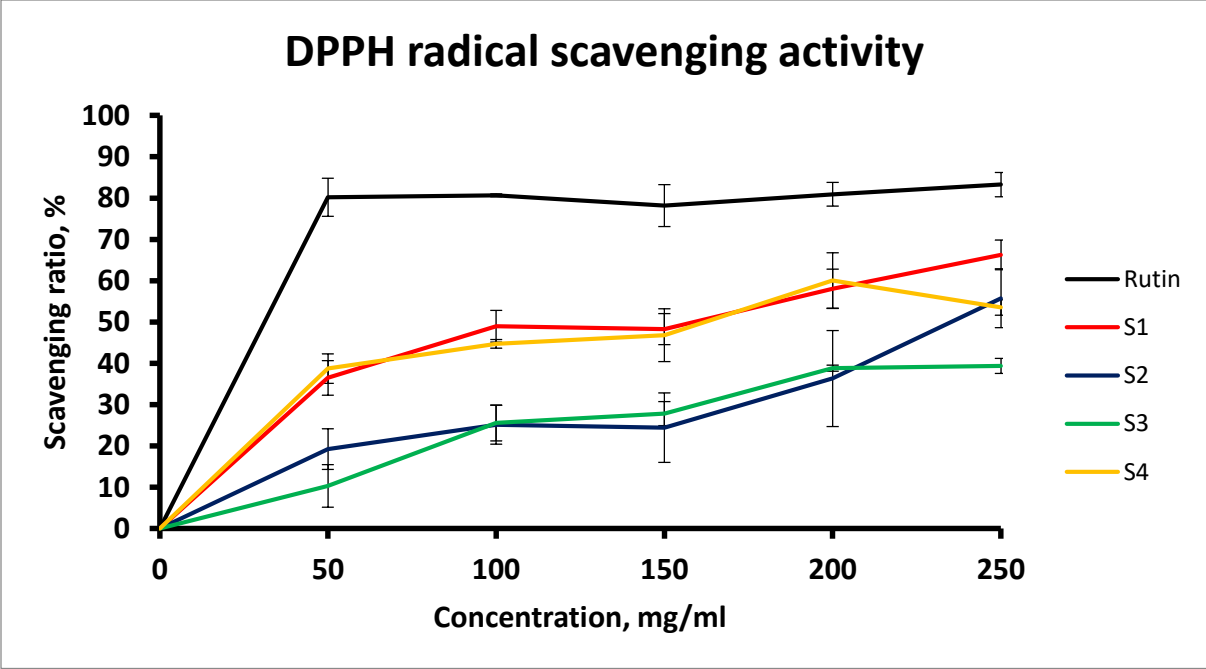


FIGURE 4. DPPH radical scavenging activity results in Permaculture LLC honey products. All values are expressed as the means±SD (n=3).

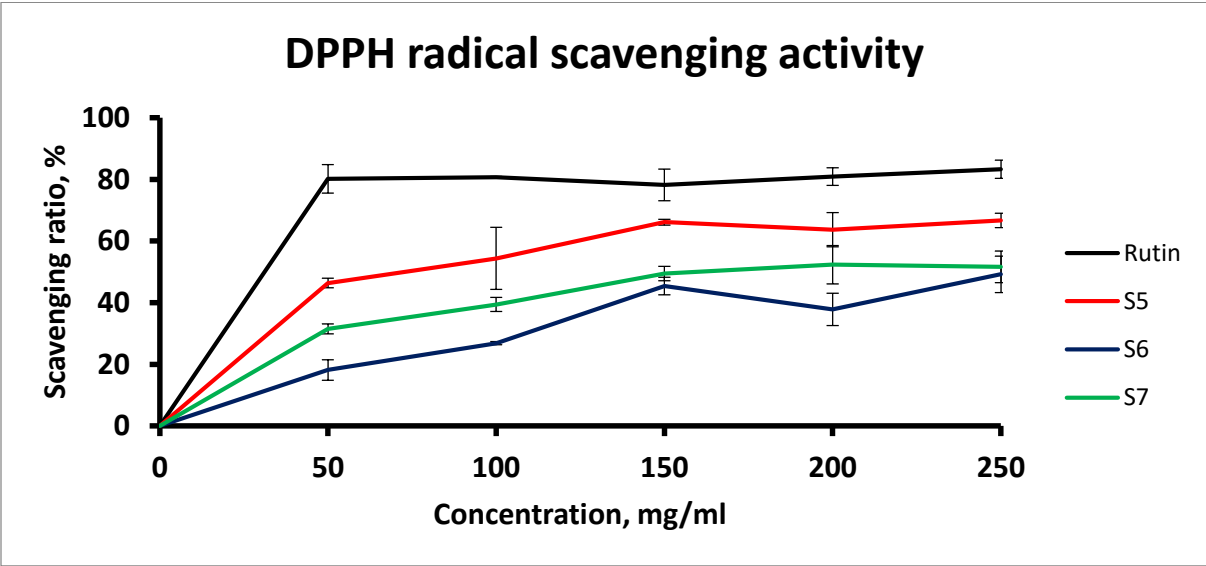


FIGURE 5. DPPH radical scavenging activity results in Mihachi LLC honey products. All values are expressed as the means±SD (n=3).

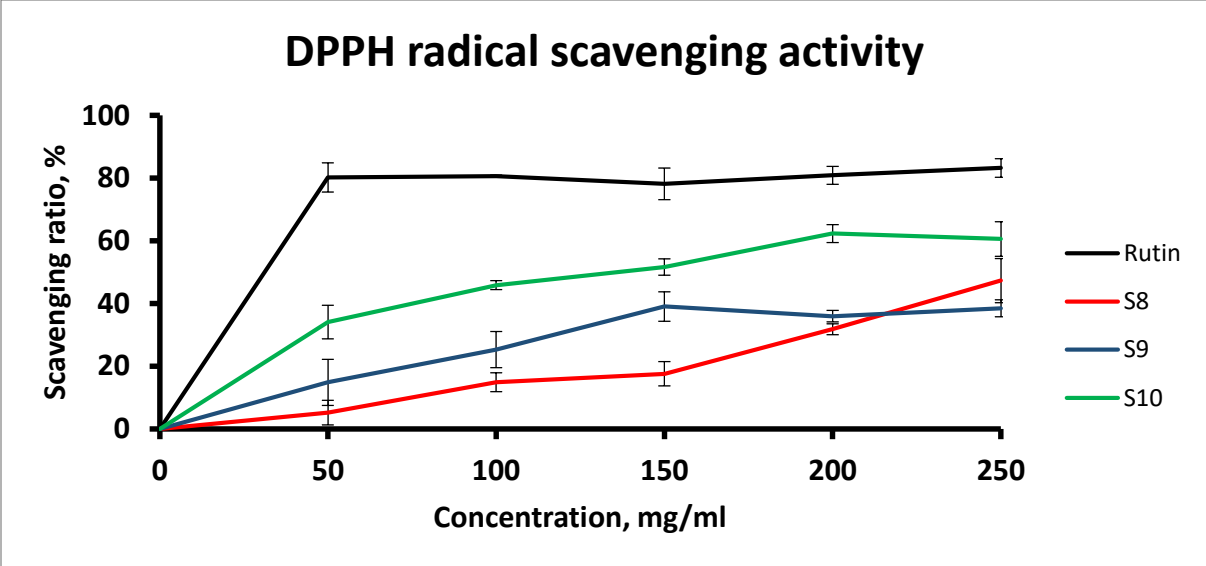


FIGURE 6. DPPH radical scavenging activity results in Ikh-Aurag Ord LLC and IVM honey products. All values are expressed as the means±SD (n=3).

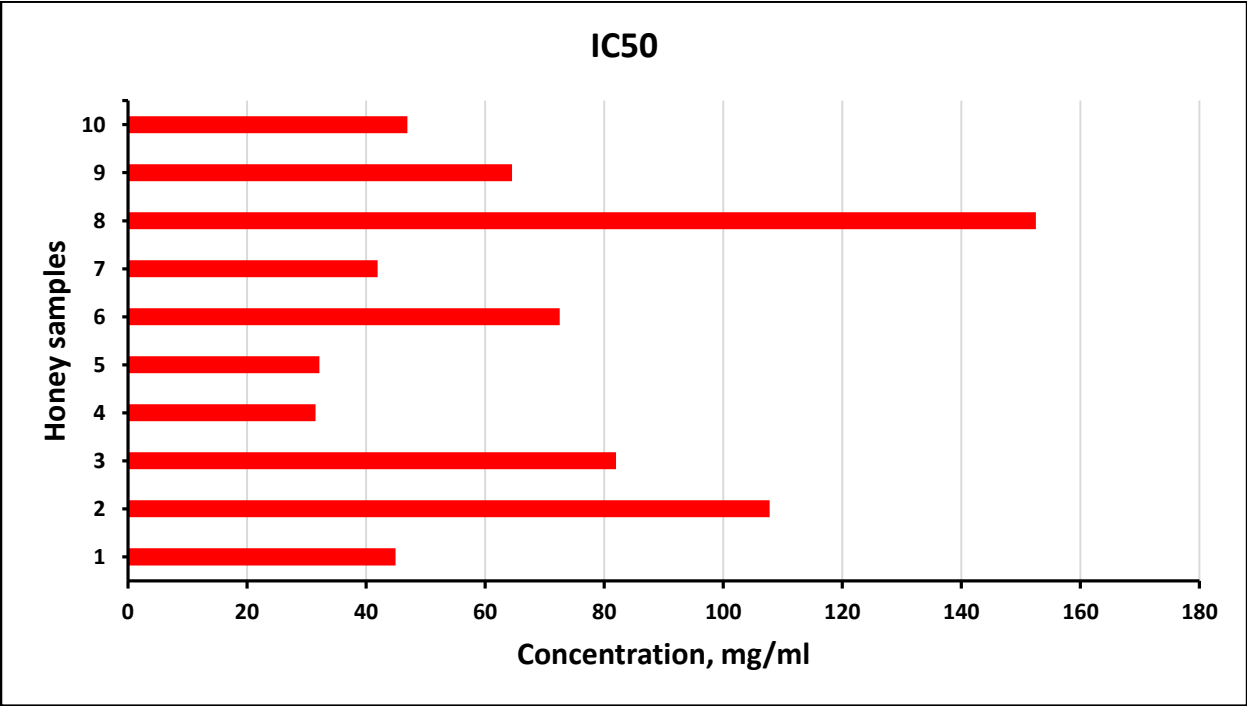


FIGURE 7. DPPH IC50 value.

TABLE 3. HPLC analysis of flavonoids.

Sample	Quercetin, mg%	Rutin, mg%	Spiraeoside, mg%
S5	0.029	-	1.32
S6	-	-	-
S7	-	-	-
S3	0.074	-	1.32
S9	-	3.36	-
S10	-	5.58	-
NS2	-	9.63	-
NS3	1.196	-	-
NS9	-	8.54	-
NS11	0.297	19.14	-

7. CONCLUSION

1. The difference in the antioxidant effects of Mongolian honey samples is due to their geographical origin and variation of plant species.
2. Buckwheat and thymus spp. honey products present moderate-high antioxidant effects and contain a high amount of antioxidative components comparing with highly rated Manuka and Greek honey products.
3. The high content of quercetin, rutin, and spiraeoside flavonoids in honey products indicates that honey collected from wild type plant species may have higher antioxidant activity and antioxidant effect directly depends on storage conditions.

8. ACKNOWLEDGMENTS

We would like to express sincere thanks to the Asian Development Bank and the Japan Fund Poverty Reduction for funding “Supporting Agriculture Value Chain” Technical Assistance Project (TA-8960:MON).

9. PUBLISHED ARTICLE

B. Bat-Erdem, Kh. Selenge, P. Otgonsugar, Ts. Undrakhbayar, U. Otgonjargal, D. Lhamsaizmaa, Ts. Byambajav, Ya. Ganbold, T. Undarmaa. 2020. The Antioxidant Effect of Mongolian Honey Products. *International Journal of Innovative Science and Research Technology*, 5(1): 503-508.

10. REFERENCE

1. G´omez-Caravaca, A.M., G´omez-Romero, M.G., Arr´aez-Rom´an, D., Segura-Carretero, A. and Fern´andez-Guti´errez, A. 2006. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J Pharm and Biomed Anal.*, 41:1220-1234.
2. Zumla, A. and Lulat, A. 1989. Honey-a remedy rediscovered. *J R Soc Med.*, 82(7):384-385.
3. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I. and Gan, S.H. 2013. Physicochemical and antioxidant properties of Malaysian honeys produced by *Apis cerana*, *Apis dorsata* and *Apis mellifera*. *BMC Complement Altern Med.*, 23;13:43.
4. Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Khalil, M.I. and Gan, S.H. 2013. Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. *Chem Cent J.*, 12(7):138.
5. Battino, M. 2018. Phenolic compounds in Honey and their associated health benefits: A review. *Molecules*, 23(9).
6. Durackova, Z. and Gvozdjakova, A. 2008. Oxidants, antioxidants and oxidative stress. Mitochondrial medicine. Book.
7. Dhanalakshmi, S., Srikumar, R., Manikandan, S., Parthasarathy, N. J. and Devi, R. S. 2006. Antioxidant property of Triphala on cold stress induced oxidative stress in experimental rats. *Journal of Health Science*, 52(6):843–847.
8. Trachootham, D., Lu, W., Ogasawara, M. A., Valle, N. R. and Huang, P. 2008. Redox regulation of cell survival. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10(8):1343–1374.

9. Kovacic, P. and Jacintho, J.D. 2001. Mechanisms of carcinogenesis: focus on oxidative stress and electron transfer. *Curr Med Chem.*, 8(7):773-796.
10. Ridnour, L. A., Isenberg, J. S., Espey, M. G., Thomas, D. D., Roberts, D. D. and Wink, D. A. 2005. Nitric oxide regulates angiogenesis through a functional switch involving thrombospondin-1. *Proc Natl Acad Sci.*, 102(37):13147–13152.
11. Valko, M., Morris, H., Mazúr, M., Rapta, P. and Bilton, R. F. 2001. Oxygen free radical generating mechanisms in the colon: do the semiquinones of vitamin K play a role in the aetiology of colon cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1527(3):161–166.
12. Baek, Y.S., Kim, Y.J., Baik, M.Y., Kim, D.O. and Lee, H.J. 2015. Total phenolic contents and antioxidant activities of Korean domestic honey from different floral sources. *Food Sci Biotechnol.*, 24(4):1453-1457.
13. Jara-Palacios, M.J., Avila, F.J., Escudero-Gilete, M.L., Pajuelo, A.G., Hereida, F.J., Hernanz, D. and Terrab, A. 2019. Physicochemical properties, colour, chemical composition, and antioxidant activity of Spanish Quercus honeydew honeys. *Eur Food Res Technol.*, 245:2017-2026.
14. Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S. and Fortuna, T. 2009. Antioxidant activity and phenolic composition of herbhoneys. *Food Chemistry*, 113(2):568-574.
15. Zhishen, J., Mengcheng, T. and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64:555-559.
16. Huang, D., O., B. and Prior, R. L. 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.*, 53:1841–1856.
17. Kreft, I., Fabjan, N. and Yasumoto, K. 2006. Rutin content in buckwheat (*fagopyrum esculentum* Moench) food materials and products. *Food chemistry*, 98(3):508-512.
18. Afrin, S., Forbes-Hernandez, T.Y., Gasparri, M., Bompadre, S., Quiles, J.L., Sanna, G., Spano, N., Giampieri, F. and Battino, M. 2017. Strawberry-tree honey induces growth inhibition of human colon cancer cells and increases ROS generation: A comparison with manuka honey. *Int J Mol Sci.*, 18(3):613.
19. Mossialos, D. 2018. Antibacterial and antioxidant activity of different types of honey derived from Mount Olympus in Greece. *Int J Mol Med.*, 42(2):726-734.
20. Palace, V.P., Khaper, N., Qin, Q. and Singal P.K. 1999. Antioxidant potential of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med.*, 26(5-6):746-761.

21. Traber, M.G. and Atkinson, J. 2007. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.*, 43(1):4-15.
22. Levine, M. 2003. Vitamin C as an antioxidant: evaluation of its in disease prevention. *J Am Coll Nutr.*, 22(1):18-35.
23. Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M.I., Piu, P.C., Spano, N. and Sanna, G. 2011. RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Talanta*, 83(3):924-929.
24. Deng, W.H., Liu, Ke., Cao, Sh., Sun, J., Zhong, B. and Chun, J. 2020. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant, and antiproliferative properties of grapefruit essential oil prepared by molecular distillation. *Molecules*, 25:217.