



## برخی از روش‌های اندازه‌گیری کیفیت بره‌موم

لعیا پورآزادی<sup>۱</sup>، فلامعلی نهضتی<sup>۲\*</sup>، فاطمه غازیانی<sup>۲</sup>، سعید عباسی<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد پرورش زنبور عسل، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲. گروه علوم دامی، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲. دانش آموخته، گروه ایران علوم دامی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

دریافت: بهمن ۱۳۹۳؛ پذیرش: تیر ۱۳۹۴

پست الکترونیک نویسنده پاسخگو: laya.pourazadi@yahoo.com

### چکیده

بره‌موم از جمله فرآورده‌های فرعی زنبور عسل به شمار می‌رود که تولید آن برای زنبوردار کم هزینه و برای جامعه انسانی پر فایده است. هدف از این مقاله معرفی بیشتر بره‌موم و توضیحی بر روش‌های بررسی ترکیبات شیمیایی آن است. مهمترین خواص بره‌موم به علت وجود ترکیبات فلاونوئیدی و انواع فنل‌ها در آن است. بره‌موم دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی بوده و قادر به مهار رادیکال‌های آزاد می‌باشد. بره‌موم محصولی از کندو است که در پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد، ترکیبات بره‌موم موجب فعالیت‌های بیولوژیکی و دارویی مانند: ضد سرطان، ضد التهاب، ضد میکروب و اثرات آنتی‌اکسیدانی می‌شود. متفاوت بودن ترکیبات بره‌موم در اقلیم‌های جغرافیایی متفاوت موجب می‌شود که بررسی کیفیت آن برای دست‌یابی به بهترین مکان و زمان برای تولید بره‌موم دارای اهمیت خاصی باشد. بدین منظور برخی از روش‌های بررسی کیفیت بره‌موم را از لحاظ میزان فنل با روش فولین، فلاونوئید با روش آلومینیوم کلراید، اثرات آنتی‌اکسیدانی آنرا با روش‌های FRAP و DPPH می‌توان مورد ارزیابی قرار داد.

واژه‌های کلیدی: زنبور عسل، بره‌موم، آنالیز

### مقدمه

کننده سیستم ایمنی، ضد التهاب، آنتی‌اکسیدان، ضد باکتری، ضد ویروسی، ضد قارچی، فعالیت‌های ضد انگل ژیاوردیا می‌باشد [۲، ۳، ۴، ۵، ۶]. ترکیبات شیمیایی بره‌موم از نظر کیفی و کمی بسته به پوشش گیاهی در هر منطقه متغیر است، اما به طور طبیعی از ۵۰ درصد صمغ (عمدتاً فلاونوئیدها و اسیدهای فنلی)، ۳۰ درصد موم، ۱۰ درصد اسانس‌های روغنی، ۵ درصد گرده گل و ۵ درصد ترکیبات مختلف دیگر تشکیل شده است [۷]. ترکیبات موجود در بره‌موم از سه منبع هستند: ترشحات گیاهی که زنبور جمع‌آوری می‌کند مانند رزین، ترشحات مواد ناشی از متابولیسم خود زنبور مانند ترشحات غدد بزاقی و موادی که طی فرآیند درست شدن

بره‌موم یک ترکیب رزینی، با طیف رنگی متفاوت است که توسط زنبور عسل از ساقه و برگ گیاهان جمع‌آوری شده و با موم و آنزیم‌های غدد بزاقی زنبور عسل مخلوط می‌شود. ریشه واژه بره‌موم یونانی است و به معنای دفاع از کندو می‌باشد و این نشان دهنده اهمیت بره‌موم برای کندو است که از آن برای صاف کردن دیواره داخلی کندو، محکم کردن قاب‌ها، محافظت از کلنی در برابر بیماری و مومیایی کردن موجودات مزاحم در کندو برای جلوگیری از فساد لاشه آن‌ها، در کندو استفاده می‌شود [۱] امروزه بره‌موم دارای خواص بیولوژیکی و دارویی فراوانی مانند: تقویت





منطقه و بررسی اثرات دارویی محصولات کندو قادر خواهیم بود تا بهترین منطقه را برای استقرار کندوها مشخص کنیم [۷]. در حال حاضر بره‌موم، به عنوان یک داروی با ارزش طبیعی دارای مزیت‌های فراوان است و به عنوان یک ماده افزودنی به داروها و نگه‌دارنده غذا، برای پیشگیری از بیماری و حفظ سلامت انسان، مورد استفاده قرار می‌گیرد. تولید بره‌موم برای زنبورداران باعث افزایش درآمد و در پزشکی و بهداشت موجب ارتقاء سلامتی بشر می‌شود. بنابراین استفاده از بره‌موم با کیفیت دارای اهمیت است. هنوز استاندارد برای کنترل کیفیت بره‌موم و تولید آن وجود ندارد، تا زمانی که یک استاندارد مناسب موجود نباشد، استفاده از بره‌موم در طب مدرن به سختی امکان‌پذیر خواهد شد [۱۱]. با تجزیه و تحلیل ترکیبات موجود در بره‌موم و تعیین مکان و زمان مناسب برداشت بره‌موم می‌توان به استفاده بهتر آن در داروسازی، پزشکی و همچنین تولید لوازم آرایشی کمک کرد. برای استفاده گسترده از بره‌موم داشتن ارزیابی دقیقی از ترکیبات آن جهت تعیین کیفیت بره‌موم مفید خواهد بود [۱۲].

#### بررسی رابطه ترکیبات بره‌موم با فصل سال و نوع گیاه

همانطور که اشاره شد تغییرات فصول بر روی ترکیبات بره‌موم، اهمیت دارد. زمان برداشت بره‌موم از لحاظ بالا بودن ترکیبات فعال بیولوژیکی دارای اهمیت است [۱۳]. همچنین ترکیبات شیمیایی در اثر تغییرات فصلی می‌تواند سبب جمع‌آوری اطلاعات در مورد منبع گیاهی بره‌موم شود. با توجه به این اطلاعات می‌توان پوشش گیاهی خاصی را در اطراف زنبورستان ایجاد کرد تا برای جمع‌آوری بره‌موم مناسب باشد. بره‌موم مناطق معتدله عمدتاً حاوی فلاونوئید بوده و به مقدار کمتر حاوی فنلیک اسید و استر است [۱۲]. یاراحمدی تعدادی کلنی زنبورعسل را جهت شناسایی ترکیبات موجود در بره‌موم مناطق مختلف استان گیلان (چابکسر، سیاه‌چال و تالش)، با پوشش غالب درختان مرکبات، درختان جنگلی و سوزنی برگ مورد مطالعه قرار دادند. نتایج ایشان نشان داد که نمونه‌های بره‌موم برداشتی از سه پوشش گیاهی مختلف در استان گیلان دارای مقادیر مناسبی از ترکیبات فلاونوئیدی است [۱۴]. در بررسی بره‌موم در پوشش‌های گیاهی مختلف، افروزان

بره‌موم مانند موم به آن اضافه می‌شود [۸]. در طب سنتی از بره‌موم به صورت گسترده استفاده می‌شده است. مردم مصر باستان از بره‌موم برای جلوگیری از فساد اجساد خود و مومیایی کردن استفاده می‌کردند. پزشکان روم و یونان از بره‌موم برای ضد عفونی کردن و به عنوان یک داروی تب بر و برای شفای بیماران استفاده می‌کردند. در قرن ۱۷ بره‌موم به عنوان یک داروی رسمی در لندن در لیست داروهای با ارزش قرار گرفته است. امروزه از آن به عنوان یک داروی سنتی محبوب استفاده می‌شود. از بره‌موم در تولیدات طبیعی، محصولات آرایشی و مواد خوراکی استفاده می‌شود. به همین دلیل دانشمندان علاقه‌مند به بررسی ترکیبات و خواص بیولوژیکی بره‌موم در دهه‌های اخیر شده‌اند [۹]. محققین مطالعاتی بر روی فعالیت‌های بیولوژیکی بره‌موم انجام داده‌اند اما اینکه چقدر ترکیبات و فعالیت‌های آن در زمینه بالینی استفاده دارد اطلاعات جامعی در دسترس نیست. از بره‌موم می‌توان در زمینه‌های ایمونولوژی (دارای تاثیر گذار بر عملکرد سیستم ایمنی)، ضد تومور (سلول‌های تومور به عنوان هدف بره‌موم)، ضد عفونت (بره‌موم به عنوان دارویی علیه بیماری‌های عفونی)، ضد آلرژی (احتمال اثر آن بر روی تسکین علائم ورم مخاط بینی در آلرژی)، ضد دیابت (اثر پیشگیرانه در تخریب سلول‌های بتای پانکراس)، درمان کننده زخم (اثر ضد زخم به علت ترکیبات فنلی) استفاده کرد. جهت بررسی این اثرات نیازمند بررسی اولیه و پایه‌ای در مورد ترکیبات شیمیایی بره‌موم است [۱۰]. برخی از مهمترین فعالیت دارویی بره‌موم به علت ترکیبات فلاونوئیدی و انواع فنل‌ها در آن است. میزان این ترکیبات در بره‌موم مناطق مختلف متفاوت است به همین جهت مطالعه بره‌موم در مناطق جغرافیایی مختلف حایز اهمیت است. سرزمین ایران به جهت موقعیت جغرافیایی و تنوع در پوشش گیاهی از امکانات مناسبی در زمینه‌ی پرورش زنبورعسل برخوردار است. یکی از مشکلات صنعت زنبورداری در کشور فقدان صنایع تبدیلی و تکمیلی محصولات زنبورعسل است، لذا بررسی بر روی خواص محصولات کندو و بهینه سازی آن دارای اهمیت است. اثرات دارویی، غذایی این محصولات مستلزم شناخت منابع موثر در کیفیت آنهاست. با مطالعه پوشش گیاهی هر





کاهش آهن فریک را اندازه‌گیری می‌کند. اما در فعالیت آنتی‌اکسیدانی، توسط یک رادیکال پایدار، میزان رادیکال‌های آزادی که به دام می‌افتند اندازه‌گیری می‌شود.

### روش اندازه‌گیری فنل کل

برای اندازه‌گیری فنل کل از آزمایش معرف فولین<sup>۲</sup> استفاده می‌شود که به آن روش تعادل گالیک اسید<sup>۳</sup> هم می‌گویند. فولین محلول زرد رنگ بوده اما در محیطی که حاوی فنل زیاد باشد به رنگ آبی تیره تغییر رنگ خواهد داد. فولین مخلوطی از فسفومولیدات و فسفو تنگستات است، که برای آزمایش‌های رنگ آمیزی فنلیک و آنتی‌اکسیدان پلی فنلیک استفاده می‌شود. این معرف فقط فنل را اندازه نمی‌گیرد بلکه با هر ماده کاهش دهنده‌ای واکنش می‌دهد. این معرف با ترکیبات نیتروژن دار مانند هیدروکسیلامین<sup>۴</sup> و گوانیدین<sup>۵</sup> نیز واکنش می‌دهد. جذب نوری محصول تشکیل شده از واکنش معرف با ترکیبات فنلی در طول موج ۵۵۰ تا ۷۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-VIS اندازه‌گیری می‌شود [۱۱، ۱۵].

### روش اندازه‌گیری فلاونویدها

اندازه‌گیری فلاونوید با روش آلومینیوم کلراید انجام می‌شود این ترکیب قادر به اندازه‌گیری فلاونون و فلاونول در برهموم است. آلومینیوم کلراید با ترکیب شدن با گروه کتون و هیدروکسیل فلاونون و فلاونول یک ترکیب پایدار ایجاد می‌کند که در طول موج ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قابل اندازه‌گیری است [۱۱، ۱۴].

### روش اندازه‌گیری اثر آنتی‌اکسیدانی

با استفاده از DPPH یا 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها و با روش FRAP قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد که با بررسی هر دو روش می‌توان اثر آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها را تحلیل کرد. DPPH یک پودر کریستالی تیره است که مولکول‌های آن در برابر رادیکال‌های آزاد پایدار است. DPPH، یک رادیکال

تعدادی کلنی زنبور عسل را در دو منطقه با گیاهان پهن برگ و سوزنی برگ، به ترتیب در منطقه خجیر و تلو در نزدیکی تهران مورد مطالعه قرار دادند. او گزارش کرد گیاهان پهن برگ و گیاهان سوزنی برگ از نظر خواص کیفی برای تولید برهموم مناسب می‌باشند، ولی برهموم گیاهان پهن برگ کیفیت بهتری دارد در بررسی برهموم در عرض‌های جغرافیایی مختلف محمدزاده مطالعه‌ای برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی برهموم ایران بوسیله آزمایش<sup>۱</sup> FRAP، انجام داده‌اند. او برهموم سه منطقه تهران، اصفهان و خراسان را مورد بررسی قرار داد. در بین سه نمونه برهموم ایران، عصاره اتانولی برهموم تهران، بالاترین قدرت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و فلاونوید کل را داشته و عصاره اتانولی برهموم خراسان کمترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی، فنل کل و فلاونوید کل را دارا بوده است. در این مطالعه گزارش شده است که، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی در برهمومی با بیشترین مقدار ترکیبات فنلیک و ضعیف‌ترین فعالیت در کمترین مقدار آن اتفاق می‌افتد. آزمایش آن‌ها نشان داد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی برهموم وابستگی زیادی به منطقه جغرافیایی دارد که برهموم از آنجا برداشت می‌شود [۱۵].

میزان موم موجود در برهموم یکی از مولفه‌های سنجش کیفیت آن است، هرچه موم در برهموم کمتر باشد و از منبع مشخصی رزین آن جمع‌آوری شده باشد، برهموم کیفیت بالاتری خواهد داشت. استفاده از تله برای جمع‌آوری برهموم موجب کاهش میزان موم موجود در برهموم می‌شود تله‌های خاص در داخل کندو، با سوراخ‌های بزرگ و منظم است. برای تولید برهموم تمیز، بهتر است تله را در بالا و جایی که نزدیک موم‌ها نباشد قرار داد [۷، ۱۱].

### ترکیبات مهم و روش‌های کنترل کیفیت برهموم

پارامترهای فنل کل، فلاونوید کل، قدرت آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در بررسی ترکیبات فعال برهموم برای تعیین کیفیت آن دارای اهمیت است. اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی بر پایه انتقال الکترون استوار است که در شرایطی با PH پایین میزان

<sup>۲</sup> Folin-ciocalteu reagent  
<sup>۳</sup> Gallic Acid Equivalence method  
<sup>۴</sup> Hydroxylamine  
<sup>۵</sup> Guanidine

<sup>۱</sup> Ferric Reducing Ability of Plasma





دارد. برای شناسایی بره‌موم با کیفیت که دارای بالاترین ترکیبات فعال باشد، می‌توان چندین منطقه در فصول مختلف را برای یک مدت معین انتخاب کرد. سپس بره‌موم‌های برداشت شده از این مناطق را بوسیله آزمایش‌های فوق مورد ارزیابی قرار داد. لذا پیشنهاد می‌شود در آزمایشگاه‌های تخصصی زیر نظر افراد متخصص در مورد کنترل کیفیت و رعایت بهداشت بره‌موم (عاری بودن از تکه‌های زنبور) و نحوه تولید (استفاده از تله توری) و نگهداری و عرضه آن به بازار برنامه‌ریزی لازم انجام گردد.

#### منابع

- 1- Bankova, V., Castro, S.L., Marcucci, M.C., Propolis: recent advances in chemistry. 2000. *Apidologie*, pp. 31, 3–15.
- 2- Sforcin, J.M., Fernandes Jr., A., Lopes, C.A.M., Bankova, V., Funari, S.R.C., Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. 2000, *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 73, 243–249.
- 3- Sforcin, J.M., Fernandes Jr., A., Lopes, C.A.M., Funari, S.R.C., Bankova, V., Seasonal effect of Brazilian propolis on *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. 2001., *Journal of Venomous Animals and Toxins*, pp. 7, 139–144.
- 4- Orsi, R.O., Sforcin, J.M., Rall, V.L.M., Funari, S.R.C., Barbosa, L., Fernandes Jr., A., Susceptibility profile of Salmonella against the antibacterial activity of propolis produced in two regions of Brazil. 2005, *The Journal of Venomous Animals and Toxins*, pp. 11, 109–116.
- 5- Orsi, R.O., Funari, S.R.C., Barbattini, R., Giovani, C., Frilli, F., Sforcin, J.M., Bankova., Radionuclides in honeybee propolis (*Apis mellifera L.*). 2006, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, pp. 76, 637–640.
- 6- Freitas, S.F., Shinohara, L., Sforcin, J.M., Guimarães, S., In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. 2006, *Phytomedicine*, pp. 13, 170–175.
- 7- R, Krell. Value-added products from beekeeping. s.l.: Food & Agriculture Org, 1996.
- 8- Marcucci, M.C., Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. s.l.: *Apidologie*, 1995.
- 9- Sforcin, J.M., Propolis and the immune system. 2007, *Journal of Ethnopharmacology*, pp. 113, 1–14.
- 10- Heinrich, M., Modarai, M., Kortenkamp, A., Herbal extracts used for upper respiratory tract infections: are there clinically relevant interactions with the cytochrome P450 enzyme system? 2008, *Planta Medica*, pp. 74, 2008.
- 11- Stan L, Mărghitaș LA, Dezmirean D., Quality criteria for propolis standardization. s.l.: Scientific

شناخته شده است که برای به دام انداختن رادیکال‌های آزاد دیگر از آن استفاده می‌شود. این ماده دارای رنگ بنفش تیره است اما اگر خنثی شود حالت زرد کم‌رنگ پیدا می‌کند (۱۵). آزمایش FARP<sup>۶</sup> که برای اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی است، بر پایه انتقال الکترون استوار است که به صورت مستقیم این انتقال را اندازه‌گیری می‌کند. همچنین این روش ارزان بوده و معرف‌های آن ساده و در دسترس است، نتایج سریع و قابل تکرار دارد و وسایل مورد نیاز در این آزمایش به طور معمول در آزمایشگاه‌ها موجود می‌باشد (۱۵). در این روش میزان کاهش آهن فریک در واکنش با ترکیب آنتی‌اکسیدان اندازه‌گیری می‌شود. تحت شرایط PH پایین که با اضافه کردن HCL به محیط اعمال می‌شود، ترکیب  $2,4,6\text{-Tris}(2\text{-pyridyl})\text{-Fe}^{3+}$  به  $\text{Fe}^{2+}$  (s-triazine) کاهش می‌یابد. این واکنش سبب تشکیل رنگ آبی تیره می‌شود. رنگ آبی در لوله‌های استاندارد (از رقیق به غلیظ)، از آبی روشن تا آبی تیره دیده شود [۱۳، ۱۴].

#### عصاره‌گیری از بره‌موم

چندین روش استخراج با حلال‌های متفاوتی مانند اتانول، آب، پروپیل الکل، روغن، استن و... برای عصاره‌گیری بره‌موم استفاده می‌شود. نوع حلال، وابسته به نیاز ما از عصاره متفاوت خواهد بود. معمولاً از اتانول برای تهیه عصاره بره‌موم استفاده می‌شود. عصاره الکلی بره‌موم مدت زمان بیشتری قادر به نگهداری خواص موجود در بره‌موم است. بیشترین مواد تشکیل‌دهنده فعال در محلول اتانول و پروپیل الکل مشاهده شده است و مواد تشکیل‌دهنده فعال کمتری در آب محلول هستند. با این حال، حتی عصاره آبی بره‌موم نیز برخی اثرات ضد باکتریایی و ضد قارچی را نشان می‌دهد. آب و گلیکول به میزان کمتر به عنوان حلال برای عصاره‌گیری به کار می‌رود. عصاره استن در شامپو و لوسیون‌ها کاربرد دارد. بره‌موم و عصاره آن می‌تواند به مواد دارویی و آرایشی و یا در قرص و آبنبات اضافه شود [۷].

#### نتیجه‌گیری

به طور کلی می‌توان اظهار داشت کیفیت بره‌موم بامیزان فنل و فلاونوئید آن و همچنین میزان اثرات آنتی‌اکسیدانی آن ارتباط

<sup>۶</sup> Ferric Reducing Antioxidant Power





15- Mohammadzadeh S, Sharriatpanahi M, Hamed M, Amanzadeh Y, Sadat Ebrahimi SE, Ostad SN. Antioxidant power of Iranian propolis extract. Food Chemistry.s.l. : Food Chemistry, 2007.

16- Bankova, V., Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. 2005, Journal of Ethnopharmacology, pp. 100, 114–117.

Papers Animal Science and Biotechnologies, 2011. Vols. 44: 137-140.

12- Afrouzan, H. Tahmasebi, Gh. Bankova V. Bigdeli, M. Comparison of quantity and quality of propolis produced by gymnosperms and angiosperms plants in northeast of Tehran, Iran. s.l. : Pajouhesh & Sazandegi, 2007.

13- Popova, S. (1998). Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. Apidologie s.l.

14- S Yarahmadi, A Aliakbar, R Hosseinpour. Flavonoids Composition in Propolis of Citrus, Forest Trees and Pines in Guilan Province. s.l. : Journal of Agricultural Knowledge, 2008.

### Some of the ways to measure the quality of propolis

**Laya Pourazadi<sup>1</sup>, Gholamali Nehzati<sup>2</sup>, Fatemeh ghaziani<sup>2</sup>, Saeed Abbasi<sup>3</sup>**

1. MSc student of honeybee breeding, college of agriculture & natural resources, university of Tehran

2. College of agriculture & natural resources, university of Tehran

3. Educated Master of Animal Sciences College of Agriculture and Natural Resources, Tehran University

#### Abstract

Propolis is a natural product, collected by honey bees, from various plant sources. Propolis is extensively used in foods and beverages because it improves human health. This overview is an attempt to the introduction of propolis and discuss the methods of propolis quality measurement. Propolis exhibits a broad spectrum of biological and pharmacological properties such as antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, immunomodulatory, antitumor, anticancer. The chemical composition and beneficial properties of propolis vary greatly depending on the phytogeographical areas, seasonal collection time, and botanical source. Therefore, some methods of determining the quality of propolis is: phenol with Folin method, Flavonoids with aluminum chloride method, FRAP and DPPH methods can be evaluated.

**Key words:** Honeybee, Propolis, Analysis

