Food Hygiene, Vol. 11, No. 43, Autumn 2021

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2022.1945475.1333**

Investigation of the physico-chemical and antimicrobial properties of propolis extract as a natural food preservative

Ghavidel, F.[1], Jafarizadeh-Malmiri, H.[2], Javadi, A.[3*], Anarjan, N.[4]

1. Department of Food Science and Technology, Mamaghan branch, Islamic Azad University, Mamaghan, Iran
2. Associate Professor, Department of Chemical Engineering, Sahand University of Technology, Tabriz, Iran
3. Associate Professor, Department of Food Hygiene, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
4. Assistant Professor, Department of Food Hygiene, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran

*Corresponding author: Javadi@iaut.ac.ir

(Received: 2021/11/21 Accepted: 2022/1/29)

Abstract

As a natural bioproduct obtained from beekeeping, propolis with its antimicrobial and antioxidative properties can be used in food production. This study aimed to evaluate the application of propolis as a preservative in food. After the preparation of propolis, the physicochemical properties of raw propolis and extract were evaluated with three repetitions. the results showed that the amounts of waxes, moisture, fat, protein, ash, and pH of raw propolis were 35.10±0.89%, 4.2±0.14%, 64.78± 0.22%, 2.30± 0.13%, 1.25± 0.25%, 4.89 ± 0.06 respectively. Obtained results of propolis extract analysis indicated that antioxidant activity, turbidity, pH, Brix, total phenolic and flavonoids content of the prepared propolis ethanolic extract were 94.5±0.02%, 1.091±0.03%a.u., 5.9±0/12 and 18.5±0.07 Bx°, 91.12±0.09 mg/g (gallic acid) and 87.94±0.03 mg/g (quercetin), respectively. The extracted propolis extract was evaluated by Gas chromatography/mass spectrometry to identify chemical compounds. The results showed that the main constituents of propolis extract were included pinostrobinchalcone (22.90%), Pinocembrin (6.14%), 2,1,3-Benzothiadiazole (5.76%), tectochrycin (4.83%), phenethylalcohol (4.25%), Oleic acid (3.10%). Evaluation of the antimicrobial activity of propolis extract showed that the prepared extract had high antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* while it was ineffective on *Escherichia coli*. The extract also inhibited the growth of *Aspergillus flavus*, unlike the control sample, so that its mycelia diameter was reached 7 mm after 8 days of incubation. In general, the results showed that the produced propolis extract can be used as an effective natural preservative in foods.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Antimicrobial activity, Physicochemical properties, Preservative, Propolis

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2022.1945475.1333

بررسی ویژگی‌های فیزیکی، شیمیایی و ضدمیکروبی عصاره بره موم به‌عنوان نگهدارنده طبیعی در مواد غذایی

فاطمه قویدل[۱]، هدا جعفری‌زاده مالمیری[۲]، افشین جوادی[۳]*، نویده انرجان[٤]

۱. دانش‌آموخته دکتری تخصصی مهندسی علوم و صنایع غذایی، واحد ممقان، دانشگاه آزاد اسلامی، ممقان، ایران
۲. دانشیار گروه مهندسی شیمی، واحد تبریز، دانشگاه صنعتی سهند، تبریز، ایران
۳. دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
٤. استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
*نویسنده و مسئول مکاتبات: Javadi@iaut.ac.ir
(دریافت مقاله: ۱٤۰۰/۸/۳۰ پذیرش نهایی: ۱٤۰۰/۱۲/۷)

چکیده

به‌عنوان یک محصول بیولوژیکی طبیعی حاصل از زنبورداری، بره‌موم با خواص ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در تولید مواد غذایی مورداستفاده قرار گیرد. هدف از این پژوهش ارزیابی قابلیت استفاده از بره‌موم به عنوان نگه‌دارنده در مواد غذایی می‌باشد. پس از تهیه بره‌موم ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بره‌موم خام و عصاره با سه تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان صمغ و موم، رطوبت، چربی، پروتئین و خاکستر بره‌موم خام به ترتیب ۰/۸۹±۳۵/۱۰، ۰/۱٤±٤/۲، ۰/۲۲±٦٤/۷۸، ۰/۱۳±۲/۳۰، ۰/۲۵±۱/۲۵ درصد و میزان pH ۰/۰٦±٤/۸۹ به دست آمد. سپس عصاره بره‌موم با استفاده از اتانول ۹٦ درصد استخراج گردید و نتایج آنالیز عصاره اتانولی نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کدورت، pH، مقدار بریکس، میزان فنل و فلاونوئید کل عصاره تهیه‌شده به ترتیب ۰/۰۲±۹٤/۵ درصد، a.u. % ۰/۰۳۰±۱/۰۹۱، ۰/۱۲±۵/۹ و °Bx ۰/۰۷±۱۸/۵، ۰/۰۹±۹۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم برحسب اسیدگالیک و ۰/۰۳±۸۷/۹٤ میلی‌گرم بر گرم برحسب کوئرستین بود. نتایج آنالیز گازکروماتوگرافی/طیف‌سنجی جرمی نشان داد که ترکیبات اصلی عصاره بره‌موم شامل پینواستروبین‌چالکون (۲۲/۹۰ درصد)، پینوکمبرین (٦/۱٤ درصد)، ۲،۱،۳-بنزوتیادیازول (۵/۷٦ درصد)، تکتوکریسین (٤/۸۳ درصد)، فنیتیل‌الکل (٤/۲۵ درصد)، اسیداولئیک (۳/۱۰ درصد) بود. ارزیابی فعالیت ضدمیکروبی عصاره بره‌موم نشان داد که عصاره تولیدشده دارای فعالیت آنتی‌باکتریال بالایی در برابر باکتری *استافیلوکوکوس‌اورئوس* بوده درحالی‌که بر روی باکتری *اشرشیاکلی* بی‌تأثیر بود. همچنین عصاره توانست رشد قارچ *آسپرژیلوس‌فلاووس* را برخلاف نمونه شاهد مهار کند به‌طوری‌که قطر میسلیوم آن بعد ۸ روز انکوباسیون تا ۷ میلی‌متر رسید. نتایج کلی نشان داد که عصاره بره‌موم تولیدشده قابلیت استفاده به عنوان نگه‌دارنده طبیعی مؤثر در مواد غذایی را دارد.

واژه‌های کلیدی: بره موم، خاصیت ضدمیکروبی، نگه‌دارنده، ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی

مقدمه

در دهه‌های اخیر، تقاضای مصرف‌کنندگان در زمینه تولید مواد غذایی به میزان قابل‌توجهی تغییر کرده است. به‌طور خاص، غذا فقط برای رفع گرسنگی و تأمین مواد مغذی بدن در نظر گرفته نشده است بلکه برای جلوگیری از بیماری‌های مرتبط با تغذیه و بهبود سلامت جسمی و روانی نیز مورداستفاده قرارگرفته است (Spinelli *et al*., 2015). همچنین نگرانی برای سلامتی به دلیل استفاده از نگه‌دارنده‌های مصنوعی و شیمیایی در مواد غذایی و ترجیح محصولات طبیعی، منجر به افزایش تحقیقات در مورد آنتی‌اکسیدان‌ها و سایر مواد نگه‌دارنده از منابع طبیعی شده است. در میان ترکیبات طبیعی متعددی که مورد بررسی قرار گرفته‌اند، بره‌موم برای استفاده در مواد غذایی یا برای اهداف درمانی بسیار اهمیت یافته‌است(Santos *et al*., 2018). بره‌موم پس از عسل و ژل‌رویال، سومین فرآورده مهم زنبورعسل است. این ترکیب یک ماده رزینی است که توسط زنبورعسل (*Apis mellifera*) از برگ‌ها، جوانه‌های گل، مواد مترشحه گیاه، ساقه‌ها و شکاف‌های موجود در پوست گونه‌های متعدد درختی جمع‌آوری و پس از ترکیب با ترشحات غدد بزاقی و موم به‌صورت ماده‌ای بسیار چسبنده تولید می‌گردد (Anjum *et al*., 2018; Pobiega *et al*., 2018). زنبورها مواد لازم برای تولید بره‌موم را از مواد دفعی گیاهان که از قسمت‌های آسیب‌پذیر گیاه زنده در مقابل عفونت‌های میکروبی محافظت می‌کند به دست می‌آورند. بنابراین، زنبورعسل از ظرفیت بیوسنتتیکی گیاهان استفاده کرده و با به‌کارگیری متابولیت‌های ثانویه گیاهی، این رزین‌ها را برای اهداف مشابه گیاهان، یعنی حفاظت تولید می‌نماید. درنتیجه، فعالیت در برابر میکروارگانیسم‌های متنوع یک ویژگی ذاتی بره موم است که هزاران سال پیش توسط انسان‌ها به رسمیت شناخته‌شده است (Bankova *et al*., 2016). بره‌موم به دلیل دارا بودن ویژگی‌های ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، تحریک سیستم ایمنی، کاهش فشارخون، التیام‌بخشی، بیهوش‌کنندگی و ضدتومور بسیار موردتوجه قرارگرفته است. فعالیت بیولوژیکی بره‌موم به‌طورمعمول وابسته به تعداد ترکیبات پلی‌فنولی به‌ویژه فلاونوئیدها بوده و این ترکیبات مسئول خواص بیولوژیکی و درمانی آن می‌باشند (Pobiega *et al*., 2018; Seibert *et al*., 2019).

پژوهش‌های مختلف اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی این عصاره را در شرایط آزمایشگاهی و سیستم‌های غذایی در برابر چندین باکتری گرم مثبت و گرم منفی تأیید می‌نمایند (Mohdaly *et al*., 2015; Dantas Silva *et al*., 2017; Rufatto *et al*., 2018; Klhar *et al*., 2019). همچنین مواد غذایی می‌توانند توسط پوشش‌های خاص توسعه‌یافته بر پایه پلیمرهای حاوی عصاره‌های بره‌موم پوشش داده شوند. تمامی این روش‌ها را می‌توان برای کاهش یا حذف کامل پاتوژن‌هایی که توسط مواد غذایی منتقل می‌شوند یا برای کاهش میکروبیوتای (*microbiota*) ساپروفیت در غذاها استفاده کرد (Pobiega *et al*., 2018). محققان مختلف در پژوهش‌های خود کاربرد بره‌موم را به عنوان ماده افزودنی طبیعی در نوشیدنی‌های لبنی و آب‌میوه اثبات کرده‌اند (Yang *et al*., 2017; Thamnopoulos *et al*., 2018). همچنین این اثر حفاظتی بر روی سایر مواد غذایی مانند سبزیجات، میوه‌ها، تخم‌مرغ و گوشت نیز

در بررسی‌های اخیر گزارش‌شده است (Bankova *et al*., 2016).

بنابراین بره‌موم به دلیل فعالیت‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی در کنار دارا بودن مزیت طبیعی بودن و همچنین به عنوان یک ماده ایمن به رسمیت شناخته‌شده می‌تواند به عنوان نگه‌دارنده موادغذایی مورداستفاده قرار گیرد (Seibert *et al*., 2019). با توجه به خواص و ویژگی‌های منحصربه‌فرد بره‌موم، هدف از این پژوهش ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی و ضدمیکروبی عصاره بره‌موم جهت کاربرد به عنوان یک ترکیب نگه‌دارنده در موادغذایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

- آماده‌سازی بره موم خام جهت آزمایش

بره موم خام از فروشگاه تخصصی فرآورده‌های زنبورعسل در شهر تبریز (استان آذربایجان شرقی) خریداری گردید. سپس ناخالصی‌ها و قسمت‌های مختلف بدن زنبورعسل که در داخل بره موم باقیمانده بود به‌صورت دستی از آن حذف‌شده و بره موم به‌صورت ورقه‌های نازک در آمد و یک‌شب در فریزر (۲۰- درجه سلسیوس) نگهداری گردید. در مرحله بعد ورقه‌های بره موم منجمد، جهت سهولت آنالیز و استخراج، با استفاده از آسیاب برقی (NM-8300, Nima–Japan) تا رسیدن به‌اندازه ذرات حدود ۸۰-۱۰ میکرومتر آسیاب گردید.

- تعیین ویژگی‌های شیمیایی بره موم خام

میزان رطوبت بره موم خام با روش خشک‌کردن و توزین ۱۰ گرم بره موم پودر شده در آون (Memert, UF55, Germany) اندازه‌گیری گردید (Bankova *et al*., 2019). جهت تعیین میزان چربی بره موم از روش سوکسیله و پروتئین از روش کجلدال استفاده گردید (AOAC, 1990). اندازه‌گیری میزان خاکستر بره موم با استفاده از سوزاندن و قرار دادن ۵ گرم از بره موم پودر شده در کوره الکتریکی (AGF10/1200, Iran) صورت پذیرفت (Bankova *et al*., 2019). جهت اندازه‌گیری PH بره موم ۱۰ گرم بره موم خام پودر شده به ۷۵ میلی‌لیتر متانول (Merck, Germany) اضافه گردید. نمونه تا زمان حل شدن بره موم بر روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. سپس pH بره موم به کمک pH متر (pH lab 827, Switzerland) تعیین شد (Razavizadeh *et al*., 2020).

برای تعیین مقدار صمغ و موم، به ۲۵ گرم از نمونه بره موم خام پودر شده ۷۵ میلی‌لیتر متانول اضافه گردید. مخلوط به مدت یک شبانه‌روز در فریزر (۲۰- درجه سلسیوس) قرار گرفت. سپس محلول برای به دست آوردن موم فیلتر گردید. مقدار موم با استفاده از وزن نمونه (SW) و وزن موم (WW) و مطابق با رابطه (۱) برحسب درصد وزنی محاسبه گردید (Dias *et al*., 2012).

$$\text{درصد موم} = \frac{WW}{SW} \times 100 \qquad \text{رابطه(۱)}$$

- تهیه عصاره بره موم

جهت تهیه عصاره بره موم ۳ گرم از بره موم آسیاب شده به ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد (Merck, Germany) افزوده‌شده و مخلوط حاصل با استفاده از یک همزن مغناطیسی (Termix – 200- Iran) با سرعت ۱۵۰ دور در دقیقه به مدت ۲۴ ساعت در دمای محیط هم زده شد. سپس قسمت نامحلول توسط فیلتراسیون

جدا گردید و قسمت محلول قبل از فیلتر مجدد، جهت سهولت جدا شدن موم‌ها و صمغ‌های باقیمانده در عصاره، به مدت یک‌شب در فریزر ۱۰- درجه سلسیوس قرار گرفت. در مرحله بعد نمونه‌ها توسط دستگاه سانتریفیوژ (Universal 320 R, Germany) به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ٤٥۰۰ دور در دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند. سپس مایع رویی، جداشده و جهت تبخیر حلال به یک اواپراتور تحت خلاء (TAT-Rdig, Iran) با دمای ٤٥ درجه سلسیوس منتقل شد. درنهایت عصاره خشک‌شده حاصل تا زمان مصرف در ظروف شیشه‌ای تیره دربسته در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری گردید (Paviani *et al*., 2010).

- ارزیابی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عصاره اتانولی بره موم

جهت اندازه‌گیری میزان کدورت عصاره بره موم از دستگاه اسپکتروفوتومتر مرئی فرابنفش (250–800, nm Perkn Elmer's Co., Rodgau, Germany) در طول‌موج ٦٢٥ نانومتر استفاده گردید (Faustina and Santoso, 2014). ضریب شکست نور عصاره بره موم به عنوان شاخصی از کل مواد جامد محلول آن توسط دستگاه رفراکتومتر (Atago, ABBE, NAR-1T, Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد (Belibağli and Dalgic, 2007). جهت ارزیابی pH عصاره بره موم از دستگاه pH متر (pH lab 827, Switzerland) استفاده گردید (Razavizadeh *et al*., 2020).

- شناسایی کمی و کیفی ترکیبات تشکیل‌دهنده عصاره بره موم

دستگاه کروماتوگرافی گازی استفاده‌شده از نوع Agilent 6890 ساخت آمریکا، مجهز به آشکارساز جرمی مدل Agilent 5989 A با ستون مویین به طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر و ستون از نوع HP-5M ساخت کمپانی Agilent آمریکا جهت تعیین ترکیبات بیوشیمیایی عصاره بره موم مورداستفاده قرار گرفت. برنامه دمایی ستون به این نحو تنظیم گردید: دمای اولیه آون ۸۰ درجه سلسیوس بود و به مدت سه دقیقه در این دما نگه‌داشته شد و بعد با سرعت ۸ درجه سلسیوس بر دقیقه تا ۱۸۰ درجه سلسیوس افزایش یافت و توقف در این دما به مدت ۳ دقیقه بود. دمای دریچه تزریق در ۲۵۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. از گاز هلیوم به عنوان گاز حامل استفاده گردید. سرعت جریان (فلوو) گاز حامل یک میلی‌لیتر بر دقیقه، روش یونیزاسیون (EI) و ولتاژ یونیزاسیون ۷۰ الکترون‌ولت بود. محدوده اسکن مس‌ها از ۵۰ تا ۵۵۰ تنظیم گردید. به‌منظور شناسایی ترکیبات از کتابخانه جرمی Wily 2007 و NIST 2005 استفاده شد. پردازش داده‌های دستگاه با استفاده از نرم‌افزار Chemstation در محیط ویندوز انجام گردید (Ahmadi and Jafarizadeh-Malmiri, 2020).

- اندازه‌گیری ترکیبات فنلی عصاره بره موم

ترکیبات فنلی کل عصاره بره موم بر اساس روش رنگ سنجی فولین–سیوکالچیو و برحسب اسیدگالیک اندازه‌گیری گردید. برای این منظور، ابتدا محلول‌های استاندارد با غلظت‌های (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم بر گرم) از اسیدگالیک (Sigma Aldrich, USA) در اتانول ۷۰ درصد تهیه و ۰/۵ میلی‌لیتر از آن‌ها با ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیکالچیو (Sigma Aldrich, USA) مخلوط و طی مدت ۰/۵ تا ۸ دقیقه، ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم (Merck, Germany)

۷/۵ درصد (وزنی/حجمی) به آن اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری و سپس جذب نوری آن‌ها به‌وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر (Perkn Elmer, Germany) در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و نمودار استاندارد (نمودار۱) رسم گردید (Lima *et al.*, 2009). برای تعیین مقدار فنل تام نمونه‌های بره موم، مقدار ۰/۰۵ گرم از عصاره بره موم در۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد حل شد و سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول تهیه‌شده تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر رقیق‌سازی گردید. در مرحله بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از این محلول با ۲ میلی‌لیتر کربنات سدیم و ۲/۵ میلی‌لیتر معرف فولین-سیکالچیو مخلوط شد و به مدت ۱ تا ۸ دقیقه در تاریکی نگهداری و سپس جذب آن در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر خوانده شد و مقدار ترکیبات فنلی برحسب میلی‌گرم اسیدگالیک در گرم عصاره خشک محاسبه گردید (Razavizadeh *et al.*, 2020).

- اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی عصاره بره موم

سنجش فلاونوئیدها در عصاره بره موم بر اساس روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلراید صورت گرفت. بدین ترتیب که ابتدا ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره اتانولی بره موم تهیه‌شده نهایی در قسمت ترکیبات فنلی کل، به ۱ میلی‌لیتر از محلول ۲ درصد کلرید آلومینیوم (Merck, Germany) اضافه شد و پس از ۱۵ دقیقه نگهداری در محل تاریک جذب آن در طول‌موج ۴۳۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. در این روش از کوئرستین (محلول آبی کوئرستین (Sigma Aldrich, USA) با غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر گرم) به عنوان استاندارد استفاده شد. منحنی استاندارد رسم (نمودار۲) و نتایج بر اساس میلی‌گرم کوئرستین در گرم عصاره بیان گردید (Razavizadeh *et al.*, 2020).

- اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بره موم

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بره موم از روش ۲،۲دی فنیل-۱-پیکریل‌هیدرازیل (Sigma Aldrich, USA) استفاده گردید. در این روش ۱۰۰ میکرو لیتر از نمونه به ۵ میلی‌لیتر محلول متانول ۵۰ درصد وزنی-وزنی که حاوی ۱ میلی‌مولار رادیکال DPPH بود اضافه‌شده و به‌شدت مخلوط شد. نمونه شاهد با مخلوط کردن DPPH خالص و متانول، با نسبت ۱:۱ آماده گردید و پس از ۳۰ دقیقه انکوباسیون در تاریکی در دمای اتاق، مقادیر جذب آن‌ها در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Perkn Elmer, Germany) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌ها بر اساس درصد توانایی مهار، با استفاده از (رابطه۲) محاسبه گردید (Ahmadi and Jafarizadeh-Malmiri, 2020).

$$I\% = \frac{A\ Control - A\ Sample}{A\ Control} \times 100 \qquad \text{رابطه (۲)}$$

Asample جذب عصاره بره موم

Acontrol جذب محلول DPPH در متانول

- تعیین فعالیت ضد باکتری عصاره بره موم تولیدشده

فعالیت ضد باکتری عصاره بره موم تهیه‌شده، با استفاده از روش انتشار در آگار ارزیابی گردید (Sayyar and Jafarizadeh-Malmiri, 2020). در این روش سوسپانسیون باکتری‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* (گرم مثبت) و *اشرشیا کلی* (گرم منفی) شامل $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ کلنی بر اساس استاندارد ۰/۵ مک‌فارلند تهیه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از هر سوسپانسیون روی سطح محیط کشت پلیت کانت آگار تهیه‌شده، تلقیح و پخش گردید.

در مرحله بعد، یک چاهک (به قطر ۵ میلی‌متر) در مرکز هر پلیت در شرایط استریل توسط ژل‌پانچر استریل ایجاد گردید و ۱۰ میکرولیتر از عصاره بره موم آماده‌شده در هر یک از چاهک‌ها تزریق شد. سپس پلیت‌های آماده‌شده در دستگاه انکوباتور و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شدند. اثر ضد باکتریایی نمونه‌ها با اندازه‌گیری قطر منطقه شفاف تشکیل‌شده در مجاورت سوراخ‌ها (هاله عدم رشد) تعیین گردید.

- تعیین فعالیت ضد قارچی عصاره بره موم به روش مهار رشد قارچ

فعالیت ضد قارچی عصاره در برابر *آسپرژیلوس‌فلاووس* با اندازه‌گیری مهار شعاع رشد میسلیوم قارچ انتخاب‌شده روی پلیت‌های حاوی محیط کشت سابرودکستروزآگار تعیین گردید (Mohammadlou *et al*., 2017).

در این روش قارچ‌های تهیه‌شده در مرکز پلیت‌های حاوی محیط کشت سابرودکستروزآگار قرار داده‌شده و به مدت ۷ روز در دمای ۲٦ درجه سلسیوس انکوبه گردیدند. سپس دیسک‌هایی به شعاع ۵ میلی‌متر از کشت‌های خالص قارچ‌های انکوبه شده جدا گردیده و بر روی پلیت‌های حاوی محیط کشت سابرودکستروزآگار و ۱۰ میکرولیتر از عصاره بره موم انتقال داده شد و یک نمونه پلیت که فقط حاوی محیط کشت سابرودکستروزآگار و قارچ بود به عنوان نمونه شاهد انتخاب گردید. رشد شعاعی میسلیوم‌ها برای شاهد و نمونه‌ها روزانه اندازه‌گیری شد و اثر مهار رشد قارچ به‌صورت اندازه‌گیری قطر پرگنه قارچ (برحسب میلی‌متر) عنوان گردید.

- روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

برای تجزیه‌وتحلیل آماری از روش آنالیز واریانس ANOVA یک‌طرفه و از آزمون مقایسه‌ای توکی (Tukey's Test) به‌منظور مقایسه داده‌های آماری به‌دست‌آمده استفاده گردید. آنالیزها در سه تکرار انجام شد و نتایج به‌صورت میانگین سه تکرار بیان گردید. سطح اطمینان ۹۵ درصد ($p<۰/۰۵$) به عنوان معنی‌دار بودن متغیرهای مستقل و اثرات آن‌ها بر روی متغیرهای وابسته انتخاب شد.

یافته‌ها

بره موم خام تهیه‌شده پس از انتقال به آزمایشگاه و قبل از استخراج عصاره، جهت تعیین ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مورد آزمون قرارگرفته و نتایج زیر حاصل شد (جدول ۱).

جدول (۱)- ویژگی شیمیایی بره موم خام

رطوبت (درصد)	صمغ و موم (درصد)	چربی (درصد)	پروتئین (درصد)	خاکستر (درصد)	pH
٤/۲±۰/۱٤	۳۵/۱۰±۰/۸۹	٦٤/۷۸±۰/۲۲	۲/۳۰±۰/۱۳	۱/۲۵±۰/۲۵	٤/۸۹±۰/۰٦

در مرحله بعد عصاره برهموم خام پس از استخراج و تبخیر اتانول استفاده‌شده به‌عنوان حلال، مورد ارزیابی قرارگرفته و ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی آن تعیین گردید. نتایج ارزیابی‌ها نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کدورت، pH و مقدار بریکس عصاره اتانولی برهموم تهیه‌شده به ترتیب ۹٤/٥±۰/۰۲ درصد، ۱/۰۹۱±۰/۰۳۰ a.u. %، ٥/۹±۰/۱۲ و ۱۸/٥±۰/۰۷ °Bx بود.

نمودار کروماتوگرام GC-MS عصاره اتانولی برهموم، ۸۲ پیک مهم را در زمان بازداری ۸۰ دقیقه نشان داد که در میان آن‌ها، ٤۷ پیک قابل‌تشخیص است. با توجه به پیک‌های شناسایی‌شده، مطابق جدول (۲) مجموعاً ٤۷ ترکیب در عصاره بره موم شناسایی شد که بیش از ۸۲/٥ درصد ترکیبات موجود در عصاره را بر مبنای سطح زیر پیک اجزای کروماتوگرام تشکیل می‌دهند.

ترکیبات اصلی عصاره برهموم شامل پینواستروبین‌چالکون (۲۲/۹۰ درصد)، پینوکمبرین (٦/۱٤ درصد)، ۲،۱،۳- بنزوتیادیازول (٥/۷٦ درصد)، تکتوکریسین (٤/۸۳ درصد)، فنیتیل‌الکل (٤/۲٥ درصد)، اسیداولئیک (۳/۱۰ درصد) بود که بالاترین پیک‌ها را به ترتیب در زمان بازداری ۳۱/۷۸، ۳۲/٦۷، ۱٦/٦٤، ۳۳/۹۲، ۹/۳۰ و ۲۸/۹٤ دقیقه نشان دادند.

جدول (۲)- ترکیبات شیمیایی شناسایی‌شده در عصاره اتانولی بره موم

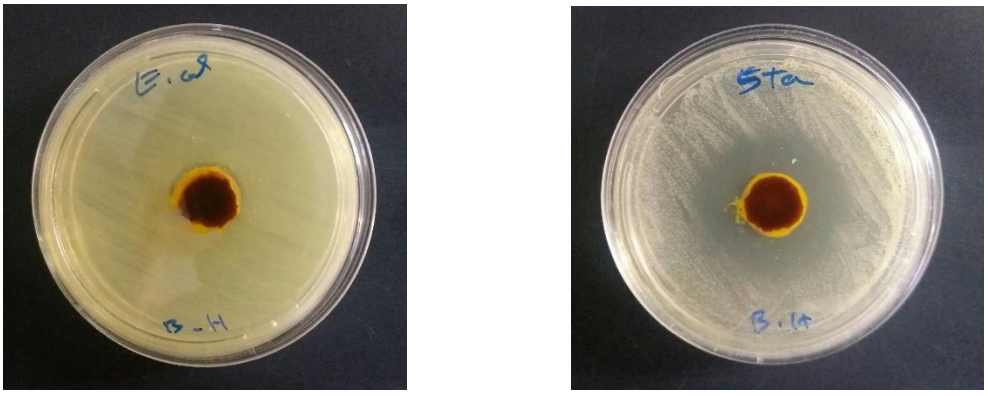
ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری (دقیقه)
۱	بنزیل الکل	۰/٦۲	۷/٥۲
۲	فنیتیل الکل	٤/۲٥	۹/۳۰
۳	پیروکاتچین	۰/۳٥	۱۱/۲۱
٤	کوماران	۱/۷۱	۱۱/٥٦
٥	۲-متوکسی-٤-وینیل فنل	۰/۹٥	۱۳/۷۲
٦	٤-اتیل-۱،۲-دی متوکسی بنزن	۰/۲٥	۱٤/۸۳
۷	۲، ۱، ۳- بنزوتیادیازول	٥/۷٦	۱٦/٦٤
۸	۳،٤،۸-تری متیل-۹-اکسی-۱-تری‌متیل‌سیلیل‌اکسی بایسیکلو [٤،۳،۱] نون-۱-ان	۰/۲۲	۱۷/۱۲
۹	گاما- کورکومن	۰/۲۲	۱۷/۲۲
۱۰	آلفا-کورکومن	۰/۲۷	۱۷/۲۹
۱۱	آلفا-مورولن	۰/۲٥	۱۷/٦۸
۱۲	گاما-کادینن	۰/٤۰	۱۷/۹۸
۱۳	دلتا-کادینن	۰/٥۸	۱۸/۱٥
۱٤	بتا-مالیئن	۰/٤۳	۲۰/۳۲
۱٥	آلفا-کادینول	۱/۲۸	۲۰/۷۷
۱٦	سیس-متیل پ-متوکسی سینامات	۰/٦۰	۲۱/۰٤

ادامه جدول (۲)- ترکیبات شیمیایی شناسایی‌شده در عصاره اتانولی بره موم

ردیف	نام ترکیب	درصد	زمان بازداری (دقیقه)
۱۷	بتا-بیسابولن	۰/۵۱	۲۱/۲۳
۱۸	کمفن	۰/۵۲	۲۱/۸۰
۱۹	پ-متوکسی سینامیک اسید	۱/۱٤	۲۲/۱٦
۲۰	۷-(۱-متیل اتیلیدن) بایسیکلو[٤,۱,۰] هپتن	۰/۸۷	۲٤/۰۳
۲۱	۲-(۳,٤ دی متوکسی فنیل) تترا هیدرو پیران	۰/۷۱	۲۵/۰۲
۲۲	سینامیک اسید،۳,٤-دی متوکسی-متیل استر	۱/۲۱	۲۵/۳۱
۲۳	۲-هپتادکانون	۰/٤٤	۲۵/۵۱
۲٤	دی متیل کافئیک اسید	۲/۸۷	۲٦/٤۱
۲۵	پالمیتیک اسید	۱/۹۲	۲٦/۷۵
۲٦	۲-پنتادکانون	۱/۵۷	۲۷/۰٤
۲۷	سیکلوهگزادکان	۰/۲۹	۲۷/۵۷
۲۸	(زد،ای)-۲,۱۳ اکتادکادی انول	۰/٤۷	۲۸/۰۰
۲۹	سانتالول	۲/٤۳	۲۸/۳۹
۳۰	اولئیک اسید	۳/۱۰	۲۸/۹٤
۳۱	پی-کوماریک اسید	۱/۱۷	۲۹/۱۵
۳۲	تترادسیلوکسیران	۰/۳۸	۳۰/۱۸
۳۳	پینواستروبین چالکون	۲۲/۹۰	۳۱/۷۸
۳٤	پنتاکوسان	۰/۲٤	۳۲/۲۵
۳۵	پینوکمبرین	٦/۱٤	۳۲/٦۷
۳٦	دی ایزواکتیل فتالات	۰/٤۹	۳۲/۹٤
۳۷	تکتوکریسین	٤/۸۳	۳۳/۹۲
۳۸	متیل ۳-(۱-فرمیل-۳,٤-متیلن دی اکسی)بنزوات	۱/۱۳	۳٤/۳۷
۳۹	۵-هیدروکسی۷,٤-دی متوکسی فلاوانون	۱/۲۷	۳۵/۱۵
٤۰	کریسین	۲/۹٤	۳۵/٤۳
٤۱	گالانجین	۱/۹۸	۳٦/۰۸
٤۲	٤,۵-دی هیدروکسی-۷-متوکسی فلاوانون	۱/۷۵	۳٦/٦۱
٤۳	٦,۱۱-دی‌هیدروکسی-۳,۱۰-دی‌متوکسی-۱۲ اچ-بنزو[بی]زانتن-۱۲-اون	۰/۱٦	۳۷/۹۵
٤٤	۱-نونادکان	۰/۲۳	٤۳/۸۸
٤۵	دی، آلفا-توکوفرول	۰/۱٦	٤٦/۱۳
٤٦	۱۷-پنتاتری‌آکونتن	۰/۲۱	۵۳/۲۸
٤۷	کوئینیندولین	۰/۳۳	۵۹/۰٤
کل		**۸۲/۵**	

ارزیابی ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی عصاره نشان داد که میزان کل ترکیبات فنلی و نیز محتوای ترکیبات فلاونوئیدی کل در عصاره بره‌موم تهیه‌شده به ترتیب ۰/۰۹±۹۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم برحسب اسیدگالیک و ۰/۰۳±۸۷/۹٤ میلی‌گرم بر گرم برحسب کوئرستین به‌دست آمد که نشان‌دهنده کیفیت بالا و غنی بودن عصاره تهیه شده از ترکیبات زیست‌فعال بیولوژیکی می‌باشد.

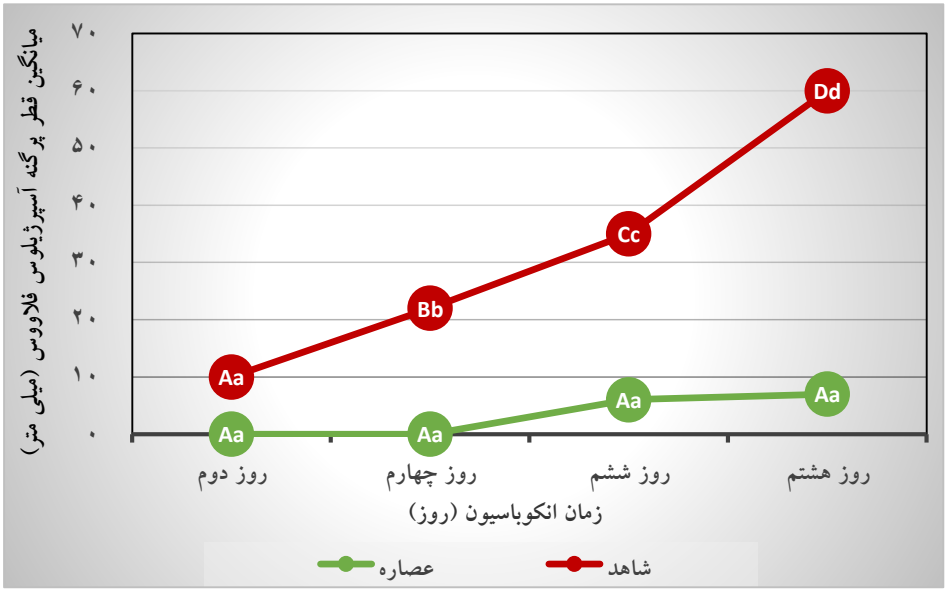
فعالیت ضد باکتریایی عصاره بره‌موم در برابر باکتری گرم مثبت (*استافیلوکوکس‌اورئوس*) و باکتری گرم منفی (*اشرشیاکلی*) که در قطر منطقه شفاف ایجادشده، آشکار می‌شود در شکل (۱) نشان داده‌شده است. نتایج نشان داد که عصاره بره‌موم هیچ‌گونه فعالیتی (منطقه مهار <۱۰ میلی‌متر) در برابر باکتری *اشرشیا کلی* مورد آزمایش نشان نداد، اما برعلیه باکتری *استافیلوکوکس‌اورئوس* فعال بود و میانگین قطر هاله عدم رشد باکتری *استافیلوکوکوس* ٤±۳۲ میلی‌متر اندازه‌گیری گردید.



(A) (B)

شکل (۱)- منطقه مهاری تشکیل‌شده توسط عصاره بره موم تولیدشده بر روی باکتری‌های (A): *اشرشیاکلی* و (B): *استافیلوکوکس‌اورئوس*

فعالیت ضد قارچی عصاره بره‌موم تولیدشده در مهار رشد هیف‌های کپک *آسپرژیلوس‌فلاووس* طی ۸ روز انکوباسیون در ۲۵ درجه سلسیوس، در نمودار (۱) نشان داده‌شده است. نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که در پلیت نمونه شاهد، قارچ انتخاب‌شده رشد داشته و پس از ۸ روز کل سطح صفحه (٦۰ میلی‌متر) را کاملاً پوشانده است، درحالی‌که رشد قارچ در صفحه حاوی عصاره بره‌موم مهار شد به‌طوری‌که قطر میسلیوم آن بعد از ۸ روز انکوباسیون به ۷ میلی‌متر رسید.



نمودار (۱)- فعالیت ضد قارچی عصاره بره موم تولیدشده در برابر کپک آسپرژیلوس‌فلاووس

a,b,c,d: تفاوت بین میانگین‌های دارای حروف کوچک متفاوت در هر کدام از روزهای آزمایش معنی‌دار می‌باشد.

A,B,C,D: تفاوت بین میانگین‌های دارای حروف بزرگ متفاوت، بین عصاره و نمونه شاهد معنی‌دار می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

محققان مختلف ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی بره‌موم خام از قبیل رطوبت، خاکستر، مواد جامد محلول و نامحلول و pH را موردبررسی قراردادند (Socha *et al.*, 2011; Dias *et al.*, 2012; Araújo *et al.*, 2016). گزارش‌های آن‌ها با نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش قابل‌مقایسه بوده و ازنظر کمی باهم تفاوت داشتند. تحقیقات نشان می‌دهد که ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی بره‌موم به لحاظ ترکیب شیمیایی، منابع گیاهی، منطقه جغرافیایی و نوع گیاه در دسترس زنبور متفاوت بوده، لذا بره‌موم دارای ویژگی‌های متفاوتی در رنگ، عطر، موم، خواص بیولوژیکی و اثرات ضدمیکروبی می‌باشد (Yang *et al.*, 2017; Anjum *et al.*, 2018). بنابراین با استناد به مطالب ذکرشده می‌توان تفاوت در کمیت ویژگی‌های موردبررسی در تحقیقات مختلف را توجیه نمود. این ویژگی‌ها اطلاعاتی را فراهم می‌سازد که برای تشخیص هرگونه بره‌موم، متناسب با منشأ جغرافیایی آن قابل‌استفاده است.

نتایج حاصل از بررسی ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی عصاره بره‌موم با نتایج به‌دست‌آمده توسط سایر محققان که به بررسی فرآورده‌های حاصل از زنبور ۱۱ کشور مختلف پرداختند تفاوت ناچیزی داشت. آن‌ها گزارش کردند که pH بره‌موم کشورهای مختلف از ٤/٧ تا ٥/٣ و میزان بریکس از ٨/٩٦ تا ١٣/٨٤ درصد متغیر است (Adaškevičiūtė *et al.*, 2019). پژوهشگران دیگری نیز ویژگی‌های مذکور را در عصاره هیدروالکلی بره موم موردبررسی قراردادند. نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش به نتایج گزارش‌شده توسط آن‌ها نزدیک بود (Hatami *et al.*,2020). تفاوت در نتایج حاصل را می‌توان با دلایل تفاوت در نوع و میزان حلال، روش استخراج و

نوع برەموم مورداستفاده توجیه نمود. تحقیقات نشان داد کـه در اسـتخراج ترکیبـات فنلـی بـه روش خیسـاندن، افزایش نسبت برەمـوم بـه حلـال سـبب کـاهش مقـدار ترکیبات فنلی استخراج‌شده و افزایش مـدت اسـتخراج، سبب افزایش مقدار ترکیبات فنلی استخراج‌شده می‌گردد (Razavizadeh and Niazmand, 2019).

GC-MS یکی از دقیق‌ترین روش‌ها بـرای شناسـایی متابولیت‌های ثانویـه مختلـف موجـود در عصـاره‌هـای طبیعی است (Kumar *et al*., 2018). نتایج تعیین کمـی و کیفی ترکیبات شیمیایی عصاره برەموم نشان داد کـه ۵ ترکیب عمده، مهم‌ترین ترکیبـات موجـود در عصـاره را تشـکیل مـی‌دادنـد. ایـن ترکیبـات شـامل پینواستروبین‌چالکون، پینوکمبرین و تکتوکریسین بودنـد که در گروه فلاونوئیـدها طبقه‌بنـدی مـی‌شـوند. ۳،۱،۲- بنزوتیادیازول یک ماده شیمیایی آروماتیـک دو حلقـه‌ای است که از یک حلقه بنزن تشکیل‌شده است. فنیتیل‌الکل نوعی الکـل آروماتیـک بـوده و اسـیداولئیـک در گـروه اسیدهای آلیفاتیک طبقه‌بندی می‌گردد. نتـایج حاصـل از این تحقیق مشابه یافتـه‌هـای گزارش‌شـده توسـط سـایر محققان بود (Afrouzan *et al*., 2018; Ecem Bayram and Gercek, 2019; Asgharpour *et al*., 2020). ترکیب شیمیایی برەموم ازنظر کیفی و کمی با توجـه بـه منبع گیاهی، موقعیت جغرافیایی، طبقه‌بندی گیاه‌شناسـی و فنولوژی گیاه قابل‌دسترس توسط زنبورها و نیز زمـان جمع‌آوری رزین بسیار متفاوت است (Vasilaki *et al*., 2019). این عوامل به‌طور مستقیم بـر ترکیـب شـیمیایی عصاره و روغن استخراج‌شده از برەموم تأثیر می‌گذارند. درنتیجه، اعتقاد بر این است کـه ایـن اختلافـات بـه‌طور قابل‌توجهی در خصوصیات شیمیایی و اثرات مفید انواع برەموم دخیل هستند (Lima *et al*., 2019). گزارش‌شده است کـه ترکیـب شـیمیایی بـرەمـوم نقـش اساسـی در فعالیت‌های بیولوژیکی آن دارد که ممکن است به دلیـل وجود طیف گسترده‌ای از فلاونوئیـدها، ترکیبـات فنلـی، اسیدهای معطر و تـرپن‌هـا باشـد کـه بـا انـواع مزایـای سـلامتی بخـش مـرتبط مـی‌باشـند (Afrouzan *et al*., 2018).

مقدار کل ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی، پارامتر مهمـی برای ارزیابی کمی و ظرفیت بیولوژیکی محصول اسـت (Dias *et al*., 2012). پلی‌فنل‌ها ماننـد فنلیـک‌اسـیدها و فلاونوئیدها ترکیبـات اصـلی بـرەمـوم بـوده و در گـروه رزین‌ها قرار دارند. این گروه از ترکیبات بـرای سـلامتی انسان (اثر دارویی و زیستی یا بیولوژیـک) سـودمندند و دارای ویژگـی مهـار رادیکال‌هـای آزاد مـی‌باشـند (Najafpour Darzi *et al*., 2019). ترکیبات فنلـی منبـع مهمـی از آنتـی‌اکسـیدان‌ها هسـتند کـه بـه عنـوان مـواد احیاکننده و دهنده هیدروژن عمل مـی‌کننـد و همچنـین دارای تأثیرات زیسـتی متعـددی همچـون فعالیـت ضـد باکتریایی و ضدالتهـابی مـی‌باشـند (Pourazadi *et al*., 2017).

در ارزیابی میزان فنل کـل و فلاونوئیـد کـل عصـاره برەموم در پژوهش حاضر مقـادیر بالـایی بـرای ایـن دو ویژگی، به دست آمد. بالا بودن میـزان فنـل و فلاونوئیـد کل در این پژوهش می‌تواند گواهی بر غنی بودن عصاره تهیه شده از ترکیبات زیست فعـال لیپـوفیلی و درنتیجـه فعالیت بیولوژیکی، فعالیـت آنتـی‌اکسـیدانی و خاصـیت ضدمیکروبی بالای عصاره برەموم حاصل باشد.

پژوهش‌ها نشان دادند که نمونه‌های برەمـوم مربـوط به سرزمین‌های گرم، محتوای فنلی و فلاونوئیدی بیشـتر

از ۲۳ درصد دارند (Dias *et al*., 2012). مطابق با یافته‌های برخی محققان مقادیر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی کل برەموم از مناطق مختلف لهستان به‌طور میانگین به ترتیب مقدار ۱۷۳/٦۰ میلی‌گرم بر گرم و ٤۸/۸٤ میلی‌گرم بر گرم به‌دست آمد. آن‌ها نتیجه گرفتند که رابطه خطی میان مقدار این ترکیبات و ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز ضدمیکروبی برەموم وجود دارد (Socha *et al*., 2011). در پژوهشی دیگر برەموم استان خراسان رضوی موردمطالعه قرار گرفت و میزان ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی برەموم به ترتیب ٤۰/۲۲ و ۲٦/٤۰ میلی‌گرم بر گرم گزارش گردید (Razavizadeh *et al*., 2020).

نتایج حاصل از ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برەموم در این پژوهش، درصد بالای فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۰/۰۲±۹٤/۵ درصد) را برای عصاره تولیدشده نشان داد که این میزان بالای فعالیت آنتی‌اکسیدانی برای عصاره، نشان‌دهنده کیفیت بسیار بالای عصاره تهیه شده و مؤید نتایج حاصل از ارزیابی میزان فنل و فلاونوئید عصاره می‌باشد.

تحقیقات نشان داده‌اند که بیشتر ترکیبات جداشده از برەموم ازجمله ترکیبات فنلی، دارای اثر محافظتی مهم در برابر واکنش‌های اکسیداسیون بوده و همانند ترکیباتی که دارای آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند بوتیل هیدروکسی تولوئن و هیدروکینون هستند عمل می‌نمایند. به‌طورکلی ترکیبات فنلی می‌توانند مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی ایجادشده توسط عصاره برەموم باشند، فلاون، کومارین و بسیاری دیگر از ترکیبات فنلی دارای خاصیت کاهنده، اهداکننده هیدروژن و شلاته‌کردن فلزات می‌باشند. آن‌ها همچنین به عنوان مهارکننده رادیکال در محلول‌های آلی و مایعات بیولوژیکی استفاده می‌شوند (Gülçin *et al*., 2010; Seibert *et al*., 2019).

ارزیابی خاصیت ضدمیکروبی عصاره نشان داد که باکتری‌های گرم منفی مقاومت بالایی نسبت به عصاره برەموم تولیدشده داشتند اما عصاره بر روی باکتری‌های گرم مثبت مؤثر بود. حساسیت بالاتر باکتری‌های گرم مثبت (خصوصاً باکتری گرم مثبت *استافیلوکوکوس‌اورئوس*) نسبت به گرم منفی برای چندین نمونه برەموم جمع‌آوری‌شده از مناطق مختلف، مشاهده‌شده است (Akca *et al*., 2016; Ristivojevic *et al*., 2016; Chen *et al*., 2018; Seibert *et al*., 2019). نتایج به‌دست‌آمده می‌تواند با تفاوت بین ساختار دیواره سلولی سویه‌های گرم منفی و گرم مثبت مرتبط باشد. درواقع، سطح لایه پپتیدوگلیکان دیواره سلولی در باکتری‌های گرم منفی، از لیپوپروتئین‌ها، پورین‌ها و پروتئین‌ها تشکیل‌شده است که این ترکیبات می‌توانند به‌شدت از لایه پپتیدوگلیکان در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها محافظت نمایند (Akca *et al*., 2016; Azhdarzadeh and Hojjati, 2016). به‌طورکلی، *استافیلوکوکوس‌اورئوس* دارای حساسیت بالایی نسبت به عصاره برەموم بود. این نتیجه برای استفاده از برەموم به عنوان نگه‌دارنده طبیعی مواد غذایی، ارزشمند است. به دلیل این‌که این پاتوژن فرصت‌طلب می‌تواند باعث ایجاد طیف وسیعی از مسمومیت ها مانند بیماری منتقله از *استافیلوکوک* شود که یکی از شایع‌ترین بیماری‌های منتقله از مواد غذایی در سراسر جهان است که ناشی از آلودگی مواد غذایی توسط انتروتوکسین‌های *استافیلوکوکوس‌اورئوس* می‌باشد (Kadariya and Smith, 2014; Seibert *et al*., 2019). مطالعات نشان

داد که فعالیت ضد باکتریایی بره‌موم برزیلی در برابر *استافیلوکوکوس اورئوس*، عمدتاً به دلیل ترکیبات فنلی قطبی موجود در بره‌موم است (Serra and Escola, 1995). همچنین پژوهش این محققین در بررسی فعالیت ضدمیکروبی ترکیبات فنولی ۱۲ نمونه بره‌موم، نشان داد که بین ترکیبات فلاونوئیدی و فعالیت باکتریوستاتیک بره‌موم رابطه مستقیم برقرار است.

بررسی فعالیت ضد قارچی عصاره نشان داد که رشد میسیلیوم قارچ در نمونه شاهد در طول دوره نگهداری کاملاً معنی‌دار بود (p <۰/۰۵). درحالی‌که در عصاره رشد میسیلیوم در طول ۸ روز مهارشده بود و بااینکه قطر میسیلیوم طی ۸ روز افزایش داشت ولی این افزایش ازنظر آماری معنی‌دار نبود (p >۰/۰۵). همچنین مقایسه فعالیت ضدقارچی بین عصاره و نمونه شاهد حاکی از این بود که در روز اول تفاوت فعالیت ضدقارچی دو نمونه معنی‌دار نبود (p >۰/۰۵) ولی طی روزهای بعدی اختلاف آماری معنی‌داری بین دو نمونه وجود داشت (p <۰/۰۵). این نتیجه نشان می‌دهد عصاره بره‌موم به‌خوبی توانسته رشد میسیلیوم قارچ را نسبت به نمونه شاهد متوقف نماید. مکانیسم ضد قارچی بره‌موم به این صورت است که بره‌موم از تکثیر مولکول DNA جلوگیری کرده و درنتیجه به‌صورت غیرمستقیم مانع تقسیم سلولی در قارچ‌ها می‌شود. همچنین ثابت‌شده است که خواص ضد قارچی بره‌موم به‌طور عمده ناشی از ترکیبات فلاونوئیدی موجود در آن است (Ownagh *et al*., 2010).

به‌طورکلی نتایج نشان داد که عصاره بره‌موم تولیدشده دارای خاصیت ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی بالایی بوده و و می‌تواند به عنوان یک ماده نگه‌دارنده مغذی باارزش در مواد غذایی و فرمولاسیون‌های دارویی، استفاده گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Adaškevičiūtė, V., Kaškonienė, V., Kaškonas, P., Barčauskaitė, K. and Maruška, A. (2019). Comparison of physicochemical properties of bee pollen with other bee products. Biomolecules, 9(12), 819.
- Afrouzan, H., Tahghighi, A., Zakeri, S. and Es-haghi, A. (2018). Chemical composition and antimicrobial activities of Iranian propolis. Iranian biomedical journal, 22(1), 50.
- Ahmadi, O. and Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020). Intensification and optimization of the process for thyme oil in water nanoemulsions preparation using subcritical water and xanthan gum. Zeitschrift für Physikalische Chemie, 235(5), 629-648.
- Akca, A.E., Akca, G., Topçu, F.T., Macit, E., Pikdöken, L. and Özgen, I.Ş. (2016). The comparative evaluation of the antimicrobial effect of propolis with chlorhexidine against oral pathogens: An in vitro study. BioMed research international, 2016:1-8.
- Anjum, S.I., Ullah, A., Khan, K.A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H. *et al*., (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(7), 1695-1703.

- Araújo, K.S.D.S., SANTOS, J.F.D., Sato, M.O., Finco, F.D.B.A., Soares, I.M., Barbosa, R.D.S. *et al*., (2016). Physicochemical properties and antioxidant capacity of propolis of stingless bees (Meliponinae) and Apisfrom two regions of Tocantins, Brazil. Acta Amazonica, 46, 61-68.
- Asgharpour, F., Moghadamnia, A.A., Kazemi, S., Nouri, H.R. and Motallebnejad, M. (2020). Applying GC-MS analysis to identify chemical composition of Iranian propolis prepared with different solvent and evaluation of its biological activity. Caspian Journal of Internal Medicine, 11(2), 191.
- Azhdarzadeh, F. and Hojjati, M. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of leaf, ripe and unripe peel of bitter orange (Citrus aurantium) essential oils. Nutrition and Food Sciences Research, 3(1), 43-50.
- Bankova, V., Bertelli, D., Borba, R., Conti, B.J., da Silva Cunha, I.B., Danert, C. *et al.*, (2019). Standard methods for Apis mellifera propolis research. Journal of Apicultural Research, 58(2), 1-49.
- Bankova, V., Popova, M. and Trusheva, B. (2016). New emerging fields of application of propolis. Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 35(1), 1-11.
- Belibağli, K. B., and Dalgic, A. C. (2007). Rheological properties of sour-cherry juice and concentrate. International journal of food science and technology, 42(6), 773-776.
- Chen, Y., Zeng, H., Tian, J., Ban, X., Ma, B. and Wang, Y. (2013). Antifungal mechanism of essential oil from Anethum graveolens seeds against Candida albicans. Journal of medical microbiology, 62(8), 1175-1183.
- Dantas Silva, R.P., Machado, B.A.S., Barreto, G.D.A., Costa, S.S., Andrade, L.N., Amaral, R.G. *et al*., (2017). Antioxidant, antimicrobial, antiparasitic, and cytotoxic properties of various Brazilian propolis extracts. Plos one, 12(3), e0172585. doi: 10.1371/journal.pone.0172585.
- Dias, L.G., Pereira, A.P. and Estevinho, L.M. (2012). Comparative study of different Portuguese samples of propolis: Pollinic, sensorial, physicochemical, microbiological characterization and antibacterial activity. Food and Chemical Toxicology, 50(12), pp.4246-4253.
- Ecem Bayram, N. and Gercek, Y.C. (2019). Appropriate maceration duration for the extraction of propolis. Fresenius Environmental Bulletin, 28(1), 188-192.
- Faustina, F. C., and Santoso, F. (2014). Extraction of fruit peels of Pometia pinnata and its antioxidant and antimicrobial activities. Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian, 11(2), 80-88.
- Gülçin, I., Bursal, E., Şehitoğlu, M.H., Bilsel, M. and Gören, A.C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. Food and Chemical Toxicology, 48(8-9), 2227-2238.
- Hatami, R., Javadi, A. and Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020). Effectiveness of six different methods in green synthesis of selenium nanoparticles using propolis extract: Screening and characterization. Green Processing and Synthesis, 9(1), 685-692.
- Kadariya, J., Smith, T.C. and Thapaliya, D. (2014). Staphylococcus aureus and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. BioMed research international, 2014: 827965. doi: 10.1155/2014/827965.
- Klhar, G.T., Isola, J.V., da Rosa, C.S., Giehl, D.Z., Martins, A.A., Bartmer, M.E. *et al*., (2019). Antimicrobial activity of the ethanolic extract of propolis against bacteria that cause mastitis in cattle. Biotemas, 32(1), 1-10.
- Kumar, D., Karthik, M. and Rajakumar, R. (2018). GC-MS analysis of bioactive compounds from ethanolic leaves extract of Eichhornia crassipes (Mart) Solms. and their pharmacological activities. The Pharma Innovation Journal, 7(8), 459-462.
- Lima, G. P. P., Lopes, T. D. V. C., Rossetto, M. R. M., and Vianello, F. (2009). Nutritional composition, phenolic compounds, nitrate content in eatable vegetables obtained by conventional and certified organic grown culture subject to thermal treatment. International journal of food science and technology, 44(6), 1118-1124.

- Lima, V.H.M.D., Almeida, K.D.C.R., Alves, C.C.F., Rodrigues, M.L., Crotti, A.E.M., Souza, J.M.D. *et al*., (2019). Biological properties of volatile oil from Brazilian brown propolis. Revista Brasileira de Farmacognosia, 29(6), 807-810.
- Mohammadlou, M., Jafarizadeh-Malmiri, H. and Maghsoudi, H. (2017). Hydrothermal green synthesis of silver nanoparticles using Pelargonium/Geranium leaf extract and evaluation of their antifungal activity. Green Processing and Synthesis, 6(1), 31-42.
- Mohdaly, A. A., Mahmoud, A. A., Roby, M. H., Smetanska, I., and Ramadan, M. F. (2015). Phenolic extract from propolis and bee pollen: composition, antioxidant and antibacterial activities. Journal of Food Biochemistry, 39(5), 538-547.
- Ownagh, A., Tukmechi, A., Adibhesam, M. and Ebrahimzadeh, S. (2010). Comparative study on the effect of ethanol extract of propolis collected from West Azarbaijan apiaries against dermatophytes and non-dermatophytes fungi. Urmia Medical Journal, 21(3), 206-214.
- Paviani, L.C., Dariva, C., Marcucci, M.C. and Cabral, F.A. (2010). Supercritical carbon dioxide selectivity to fractionate phenolic compounds from the dry ethanolic extract of propolis. Journal of Food Process Engineering, 33(1), 15-27.
- Pobiega, K., Kraśniewska, K. and Gniewosz, M. (2018). Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality–A review. Trends in Food Science and Technology. 83: 53-62.
- Razavizadeh, B.M. and Niazmand, R. (2019). The Effect of Maceration and Ultrasound Extraction Methods on the Content of Phenolic Compounds of Propolis. Innovative Food Technologies, 6(2), 293-304. [In Persian]
- Razavizadeh, B.M., Niazmand, R., Hajinezhad, S. and Akbari, E. (2020). Physicochemical and antimicrobial properties and determination of phenols and flavonoids content of propolis from bee hives in Khorasan Razavi Province. Journal of Research and Innovation in Food Science and Technology, 9(1), 27-40. [In Persian]
- Ristivojević, P., Dimkić, I., Trifković, J., Berić, T., Vovk, I., Milojković-Opsenica, D. *et al*., (2016). Antimicrobial activity of Serbian propolis evaluated by means of MIC, HPTLC, bioautography and chemometrics. PloS one, 11(6), e0157097.
- Rufatto, L.C., Luchtenberg, P., Garcia, C., Thomassigny, C., Bouttier, S., Henriques, J.A.P. *et al*., (2018). Brazilian red propolis: Chemical composition and antibacterial activity determined using bioguided fractionation. Microbiological research, 214, 74-82.
- Santos, M.S., Estevinho, L.M., de Carvalho, C.A.L., da Silva Conceição, A.L. and de Castro Almeida, R.C. (2019). Rheological and sensorial evaluation of yogurt incorporated with red propolis. Journal of Food Science and Technology, 1-10.
- Sayyar, Z. and Jafarizadeh-Malmiri, H. (2020). Preparation of curcumin nanodispersions using subcritical water–Screening of different emulsifiers. Chemical Engineering and Technology, 43(2), 263-272.
- Seibert, J.B., Bautista-Silva, J.P., Amparo, T.R., Petit, A., Pervier, P., dos Santos Almeida, J.C. *et al*., (2019). Development of propolis nanoemulsion with antioxidant and antimicrobial activity for use as a potential natural preservative. Food chemistry, 287, 61-67.
- Serra, J. and Escola, R. (1995). A study on the bacteriostatic activity of propolis. Deutsche Lebensmittel-Rundschau, 91(8): 242–246.
- Socha, R., Juszczak, L., Pietrzyk, S., Gałkowska, D., Fortuna, T. and Witczak, T. (2011). Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys. International Journal of Food Science and Technology, 46(3), 528-534.
- Spinelli, S., Conte, A., Lecce, L., Incoronato, A.L. and del Nobile, M.A. (2015). Microencapsulated propolis to enhance the antioxidant properties of fresh fish burgers. Journal of Food Process Engineering, 38(6), 527‑535.

- Thamnopoulos, I.A.I., Michailidis, G.F., Fletouris, D.J., Badeka, A., Kontominas, M.G. and Angelidis, A.S. (2018). Inhibitory activity of propolis against Listeria monocytogenes in milk stored under refrigeration. Food microbiology, 73, 168-176.
- Vasilaki, A., Hatzikamari, M., Stagkos-Georgiadis, A., Goula, A.M. and Mourtzinos, I. (2019). A natural approach in food preservation: Propolis extract as sorbate alternative in non-carbonated beverage. Food chemistry, 298, 125080.
- Yang, W., Wu, Z., Huang, Z.Y. and Miao, X. (2017). Preservation of orange juice using propolis. Journal of Food Science and Technology, 54(11), 3375–3383.