● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، سال ششم، شمارهٔ ٤ (پی‌درپی ٢٤)، صفحه ١٢ الی ١٦، پاییز ١٣٨٣
دریافت: ٨٢/٩/١٧، پذیرش: ٨٣/٣/١٣

تهیه و استاندارد نمودن موم زنبور عسل (Bees Wax) دارویی

دکتر حسین عسگری راد [1*]، دکتر فرشته پورمراد[2]، دکتر خدیجه اکبری[3]

۱- استادیار گروه فارماسیوتیکس دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۲- استادیار گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران۳- داروساز

سابقه و هدف: موم زنبور عسل در صنایع دارویی، آرایشی ـ بهداشتی بعنوان یک ماده جانبی پرمصرف با کاربردهایی از قبیل آهسته کننده حلالیت ترکیبات دارویی، امولسیون کننده و حجم دهنده مورد توجه می‌باشد. در این تحقیق تهیه بیزواکس استاندارد در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها: ابتدا موم تهیه شده توسط زنبور عسل (Appis mellifera) در دو فصل مختلف بهار و پائیز انتخاب گردید و پس از خیساندن در آب، موم بدست آمده جهت خالص سازی بیشتر به روشهای مختلف (آب داغ، اتر و اتانل ۹۰٪) در شرایط کنترل شده از نظر دما تهیه گردید. شرایط مشابه جهت تهیه موم سفید به انضمام بی‌رنگ کردن به کمک یک ماده دکلره کننده صورت گرفت. مشخصات موم بدست آمده با خصوصیات ذکر شده برای موم دارویی در فارماکوپه انگلستان مقایسه و استاندارد گردید.

یافته‌ها: استخراج بیزواکس با حلالهای مختلف نشان داد کاربرد اتر در مورد موم زرد بهاره و پاییزه میزان بعضی از اندیس‌ها را از محدوده استاندارد خارج کرد ولی استخراج موم سفید بهاره و پائیزه با آب داغ میزان اندیس‌ها در محدوده استاندارد قرار گرفت. اتانل حلال مناسبی برای استخراج نمی باشد و اندیس ها را بطور قابل توجهی کا هش می دهد.

نتیجه‌گیری: موم زرد و سفید بهاره با استفاده از روش ذوب کردن به کمک آب داغ در حرارت کمتر از 85^{oC} به دلیل مقرون به صرفه بودن و نیز نتایج یکسان در مقایسه با موم استاندارد فارماکوپه انگلستان جهت تهیه موم دارویی پیشنهاد می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: *موم زنبور عسل، Appis mellifera، موم زرد، موم سفید، استخراج.*

مقدمه

موم ها از دسته لیپیدها بوده و از نظر رفتارروان پذیری مواد شبه پلاستیک می باشند(۱). موم ها به انواع مختلف از جمله موم‌های حقیقی، استری، معدنی، هیدروکربنی، صناعی و موم‌های متفرقه تقسیم می گردند. موم‌های حقیقی، از استرالکل‌ها و اسید های چرب با وزن مولکولی بالا تشکیل می‌شوند که موم زنبور عسل (Bees wax) در این گروه قرار دارد(۲). موم زنبور عسل ماده‌ایست که بوسیله غدد زیر شکمی زنبورهای کارگر از گونه‌های مختلف (Apiss mellifera) از خانواده آپیده و در سنین بخصوصی از سیزدهمین تا هیجدهمین روز پس از تولد آن ترشح می‌شود. موم جسمی است به شکل قطعات، ورقهای سفید یا زرد مایل به سفید که در دمای مختلف هوا حالتهای متفاوتی دارد، در هوای سرد، سخت و شکننده بوده و در هوای گرم متناسب با درجه‌های مختلف دما، نرم و نرمتر می‌گرددو در 65^{oc} ذوب و در 250^{oc} بخارمی‌شود(۳). روشهای مختلفی برای استخراج موم خالص، از موم زنبور عسل

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.2.8]

موجود می‌باشد(۶-۴). موم زنبور عسل، حداقل شامل ۲۸۴ ترکیب مختلف از قبیل منواسترها، هیدروکربن‌ها، اسیدهای چرب آزاد، دی‌استرها و الکل‌های چرب آزاد است که اغلب آنها ترکیبات فرار می‌باشند. تعدادی از این ترکیبات (۴۸ نوع) مسئول بوی خوش موم زنبور عسل می‌باشند(۸و۷و۳). امروزه کاربرد موم زنبور عسل به عنوان ماده امولسیون کننده، قوام دهنده، نرم کننده، جلاء دهنده در قرص‌سازی، حامل در فرآورده‌های آرایشی ـ بهداشتی، فیلم در سیستم‌های آهسته رهش (sustained released) و پوشاندن طعم بد دارو در داروسازی اهمیت زیادی دارد(۱۰و۹).

استاندارد کردن بیزواکس بر اساس اندازه گیری شاخص های ذکر شده در کتب مرجع دارویی مانند فارماکوپه انگلستان صورت می گیرد اما در تحقیقات جدید برای اطمینان از استاندارد بودن آن مواد اطراف کندو مانند حشره کش ها نیز مطالعه شده است(۱۲و۱۱). جستجوی ترکیبات خارجی در موم زنبور عسل به دلیل صرف وقت زیاد و هزینه بالا هنوز وارد فارماکوپه های داروئی نشده است.

از آنجائیکه بیزواکس هنوز به عنوان ماده جانبی داروئی وارداتی بشمار می آید، این مطالعه به منظور تهیه بیزواکس سفید و زرد از موم جمع آوری شده در فصول بهار و پائیز و اندازه گیری شاخص های مربوطه جهت استاندارد کردن آن مطابق فارماکوپه انگلستان (BP) انجام شد(۱۳).

مواد و روشها

موم زنبور عسل (بهاره و پاییزه) از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان مازندران تهیه گردید. زایلن، اتانول ۹۶٪، اسید کلریدریک، هیدروکسید پتاسیم، اسید استیک، نمک سدیم EDTA، پراکساید هیدروژن، متیل اورانژ، فنل فتالئین، پارافین، دی‌کرومات پتاسیم و اسید سولفوریک از شرکت مرک تهیه شد. جهت بررسی استاندارد نمودن موم های تهیه شده از روش های استاندارد موجود در فارماکوپه انگلستان استفاده شد(۱۳).

روشهای استخراج موم زرد (پاییزه و بهاره)

استفاده از آب داغ

در این روش، ابتدا ۴ گرم از موم زنبور عسل (پاییزه و بهاره بطور جداگانه) در ارلن حاوی۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و سپس در دمای کمتراز 85^{oc} حرارت داده تا موم کاملا ذوب شود، آنگاه موم ذوب شده جهت جداسازی ناخالصی های آن از صافی عبور داده شد. عمل ذوب و صاف کردن را چندین بار تکرار نموده تا موم زرد خالص (پاییزه و بهاره) بدست آید.

استفاده از الکل ۹۰ درصد

این روش مانند روش استفاده از آب داغ انجام شد با این تفاوت که از حلال الکل ۹۰ درصد استفاده شد. حلال را بوسیله دستگاه تقطیر کننده گردان خارج کرده تا موم زرد (پاییزه و بهاره) مناسبی بدست آید.

استفاده از حلال اتر

این روش مانند روش استفاده از آب داغ انجام شد با این تفاوت که از حلال اتر استفاده گردید و حلال بوسیله دستگاه تقطیر کننده گردان جدا شد.

تهیه موم سفید از موم زرد

ابتدا ۴ گرم از موم زرد زنبور عسل (پاییزه و بهاره) که بطور جداگانه بوسیله حلالهای مختلفی از جمله آب داغ، اتر و الکل ۹۰٪ تهیه شده بود روی بن ماری به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده شد و سپس به منظور رنگزدائی به آن پراکساید هیدروژن افزوده گردیدو بدین ترتیب موم سفید حاصل شد.

بررسی خواص فیزیکو شیمیائی موم زرد و سفید مطابق فارماکوپه انگلستان

نقطه ذوب

مقداری موم در بشر ۲۵ میلی لیتری روی بن ماری گذاشته ودماسنج نیز در داخل آن قرار داده شد بطوریکه هر دقیقه ۱۰ درجه دما افزایش یافت سپس دما با مشاهده اولین قطره یادداشت شد.

تعیین اندیس اسیدی

اندیس اسیدی مطابق فرمول $(n_1-n_2)/w$ ۲۸/۰۵ که W وزن ماده بر حسب گرم می باشد محاسبه گردید که بدین منظور به ۴۰ میلی لیتر زایلن و۲ گرم موم در داخل بالن در حین حرارت، ۶۰ میلی لیتر اتانل ۹۶٪ وسپس به آن ۰/۵ میلی لیتر محلول فنل فتالئین اضافه شد و با محلول پتاس ۰/۵ مولار تا بدست آمدن رنگ قرمز ثابت به مدت ۱۰ ثانیه تیتر گردید(n_1). تیتراسیون تا مشاهده رنگ ثابت ادامه داده شد(n_2).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.2.8]

تعیین اندیس صابونی

اندیس صابونی مطابق فرمول $(n_2-n_1)/w$ ۲۸/۰۵ که W وزن ماده بر حسب گرم می باشد محاسبه گردید. پس از حل کردن ۲ گرم موم در زایلن به کمک حرارت به آن ۳۰ میلی لیتر اتانل اضافه شد و با محلول پتاس ۰/۵ مولار مخلوط گردید. مخلوط واکنش به مدت ۳ ساعت رفلو وسپس محلول فنل فتالئین به آن اضافه شد. تیتراسیون مخلوط گرم با اسید کلریدریک ۰/۵ مولار انجام شد(n_2). حجم n1 با استفاده از تیتراسیون ۲۵ میلی لیتر محلول الکلی پتاس با محلول ۰/۵ مولار اسیدکلریدریک بدست آمد. اندیس استری ازتفریق اندیس اسیدی صابونی وRatio number از تقسیم اندیس استری به اندیس اسیدی بدست می آید.

یافته‌ها

راندمان محصول بدست آمده پاییزه و بهاره با استفاده از آب داغ به ترتیب ۹۵ و۹۵/۵٪، با استفاده از الکل به ترتیب ۹۲/۲ و ۹۳/۷٪ و با استفاده از حلال اتر به ترتیب ۹۳/۷ و ۹۴٪ می‌باشد. همچنین راندمان محصول‌های بدست آمده موم زرد پاییزه، بوسیله آب داغ، اتر و الکل ۹۰٪ به ترتیب ۹۲/۵، ۸۹/۵، ۸۹/۵٪ و راندمان موم زرد بهاره، بوسیله آب داغ، اتر و الکل ۹۰٪ به ترتیب ۹۵، ۹۰ و ۹۰٪ می‌باشد. در این مطالعه ارزش صابونی و ارزش استری موم زرد پاییزه تهیه شده با آب داغ در محدوده استاندارد فارماکوپه BP می‌باشد ولی ارزش اسیدی وRatio number آن در محدوده استاندارد فارماکوپه BP نمی باشد(جدول ۱). زمانی که میزان اسیدهای چرب آزاد موجود در موم کم باشد، در نتیجه به همان میزان Ratio number افزوده شده، زیرا ارزش اسیدی با ratio number نسبت عکس دارد. در خصوص موم زرد بهاره استخراج شده باآب،نقطه ذوب، ارزش اسیدی، ارزش صابونیRatio number با مقادیر استاندارد فارماکوپه مطابقت دارد. موم سفید پائیزه استخراج شده با آب نشان دهنده مطابقت نقطه ذوب و ارزش صابونی در محدوده استاندارد بوده است. نقطه ذوب، اندیس های اسیدی، صابونی و استری موم سفید بهاره بدست آمده از روش استخراج آب نیز در حد استاندارد فارماکوپهBP مشاهده می‌گردد (جدول ۲).

جدول۱. نتایج انجام آزمایشات مطابق فارماکوپه BP بر روی موم زردزنبورعسل(پائیزه‌و بهاره)

نوع آزمایش / حلالهای‌مختلف	نقطه ذوب	ارزش اسیدی	ارزش صابونی	ارزش استری	Ratio number
موم زرد استاندارد[b]	٦١ – ٦٥°c	١٧ – ٢٢	٨٧ – ١٠٢	٧٠ – ٨٠	٣/٣ -٤/٣
موم زرد پاییزه استخراج با آب	٦٢/٥ ±٠/٤٤٧[a]	١٦/٦٠±٠/٢٧٤٨	٩٠/٦٠±٠/٦٨	٧٤/١١±٠/٥٤٦	٤/٤٦±٠/٠٦
موم زرد پاییزه استخراج بااتر	٦٠/٧ ± ٠/٥٧	١٧/٢٧±١/٣٣	٨٣/٦٤±١/٦٨	٦٦/٣٦٦±٢/٠١٨	٣/٨٦±٠/٣٤٩
موم زرد پاییزه با اتانل ۹۰	٥٩/٢ ± ١/٠٣٦	٨/٧٥١٦±١/٥	٨١/٩٠٦±١/٥٦	٧٣/١٥٤±٢/٨	٨/٦٦±٢/٢٦
موم زرد بهاره استخراج با آب	٦٢/٤ ± ٠/٣٧	١٧/١٦٦±٠/٦٧	٩٠/٨٨٢±٠/٥٦	٧٣/٧١±١/٠٩٨	٤/٣ ± ٠/٢٢
موم زرد بهاره استخراج بااتر	٦١/٤ ±٠/٤١٨٣	١٧/٢٧٨٨±٠/٩٢١	٨٠/٥٠٣±٤/٧١	٦٣/٢٢±٥/٤	٣/٦٧٧ ± ٠/٤٨١
موم‌زردبهاره‌بااتانل ۹۰	٦٠ ± ٠/٧٩	١١/٢±١/١٦	٧٢/٩٣±٢/٢١	٦١/٧١±٢/٢٦	٥/٥٣٩٢ ± ٠/٦٥

a کلیه داده ها نماینده mean ± SD می باشد، b اندیسهای فیزیکو شیمیائی موم زرد مطابق فارماکوپه BP

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.2.8]

جدول۲. نتایج انجام آزمایشات مطابق فارماکوپه BP بر روی موم سفید زنبورعسل(پائیزه‌وبهاره)

نوع آزمایش / حلالهای مختلف	نقطه ذوب	ارزش اسیدی	ارزش صابونی	ارزش استری	Ratio number
موم سفیداستاندارد[b]	۶۱ – ۶۵°c	۱۷ – ۲۴	۸۷ – ۱۰۴	۷۰ – ۸۰	۳/۳ – ۴/۳
موم سفیدپاییزه استخراج با آب	۶۲/۹±۰/۳۷[a]	۱۶/۷۱۷±۰/۴۱۹	۹۷/۰۲۳±۱/۳۴	۸۰/۳۳۵±۱/۲۹	۴/۸۰۸±۰/۱۴۳
موم سفیدپاییزه استخراج بااتر	۶۱/۵±۰/۵	۱۷/۰۵۴±۰/۶۳۹	۸۷/۷۹۶±۲/۹	۷۰/۷۴۱۶±۳/۴۲	۴/۱۵۷۴±۰/۳۳
موم سفیدپاییزه با اتانل ۹۰	۶۰/۵±۱/۵۸	۱۱/۴۴±۱/۰۷۸	۸۳/۳۰۸±۱/۵۹۸	۷۱/۸۶۳۶±۱/۶۵۱	۸/۸۷۷۸±۱/۸۳
موم سفیدبهاره استخراج با آب	۶۲/۷±۰/۴۷۳	۱۶/۹۴۲±۰/۵۴	۹۵/۹۳۲±۱/۱۱۹	۷۸/۸۷±۰/۶۷	۴/۶۵۸±۰/۱۲
موم سفیدبهاره استخراج با اتر	۶۱/۷±۰/۲۷	۱۶/۸۰۱۲±۰/۵۷۳	۸۴/۱۴۹±۲/۲۱۷	۶۷/۳۴±۲/۴۴	۴/۶۰±۰/۲۱
موم سفیدبهاره با اتانل ۹۰	۶۱/۶±۰/۶۵	۱۱/۷۸۱±۱/۱۹	۷۶/۰۱۵۵±۳/۸۹	۶۴/۲۳۴±۳/۲۶۵	۵/۴۸۵۵±۰/۴۸

a کلیه داده ها نماینده mean±SD میباشد، b اندیسهای فیزیکو شیمیائی موم سفید مطابق فارماکوپه BP

بحث

در این مطالعه در مورد موم سفید بهاره و پائیزه که با آب داغ استخراج شده بود میزان اغلب اندیس‌ها در حد استاندارد بدست آمد. همچنین استخراج با اتانل موجب کاهش اندیس‌ها گردید. یافته‌های بدست آمده از کاربرد آب داغ برای تهیه موم زرد و سفید بهاره با استاندارد مطابقت داشت. استفاده از اتر به عنوان حلال استخراج در تهیه موم زرد بهاره و پائیزه اندیس‌های صابونی، استری، اسیدی و Ratio number را در محدوده استاندارد نشان نداد.

از روشهای استخراج موم زنبور عسل است که در آن از انرژی خورشید جهت ذوب نمودن موم ناخالص بهره برداری می کنند. از اشکالات این روش راندمان کمتر آن می با شد. استخراج به کمک آب جوش یا بخار آب و نیز استخراج با آب داغ در ظروف فلزی از قبیل آلومینیومی، مسی و فولاد زنگ نزن راندمان بالاتری دارد. استفاده از روش سانتریفوژ برای استخراج موم در آب داغ به دلیل هزینه بالا مقرون به صرفه نمی باشد. استخراج به کمک حلال های شیمیائی مانند بنزن، استون، تولوئن یا تری کلرو اتیلن در آزمایشگا ههها و در صنعت انجام شده است که به دلیل باقیمانده حلال در محصول نهائی، مناسب نمی باشد(۶-۴). با توجه به اهداف این مطالعه تهیه موم زنبور عسل استاندارد دارویی از موم ناخالص بوده در دو فصل مختلف پاییز و بهار مطابق فارماکوپه BP انجام گرفت. در تحقیق حاضر میزان اندیس های اسیدی، صابونی، استری، نقطه ذوب و Ratio number موم زرد بهاره استخراج شده با آب داغ در محدوده فارماکوپه BP بود یا به عبارت دیگر آب داغ بهترین حلال برای دستیابی به محصول استاندارد می‌باشد. در مورد موم سفید تهیه شده با حلالهای مختلف (آب داغ، اتر و اتانل ۹۰٪) میزان اندیس های اسیدی، صابونی، استری، نقطه ذوب و Ratio number موم سفید بهاره استخراج شده با آب در محدوده فارماکوپه BP بود. حلال اتانل ۹۰٪ حلال مناسبی برای استخراج نمی‌باشد، زیرا میزان اندیس ها را به میزان قابل توجهی کاهش داده است، احتمالاً اسیدهای چرب آزاد و استرهای چرب در اتانل ۹۰٪ حل شده و از موم زنبور عسل خارج شده است.

بطور کلی استفاده از آب داغ در حرارت کمتر از ^{o}C ۸۵ بدلیل هزینه کمتر و دستیابی به محصول استاندارد نسبت به سایر روش‌های انجام شده ارجحیت دارد و محصول بدست آمده در فصل بهار بدلیل شرایط آب و هوایی مناسب نتایج بهتری را نشان می‌دهد. در حال حاضر استاندارد کردن موم داروئی، با استفاده از روشهای ذکر شده در کتب فارماکوپه صورت می گیرد. تحقیقات امروزی نشان می‌دهد که به دلیل آلودگی کندوهای زنبور عسل با مواد مختلف (حشره‌کشها مانند بنومیل، اسیدهای آلی و روغن های فرار مثل تیمول و مواد دیگر موجود در محیط زیست) بهتر است به

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.2.8]

جستجوی اینگونه مواد نیز در موم پرداخته تا از استاندارد بودن آن اطمینان حاصل گردد(۱۰و۹). تاکنون مواردذکر شده بدلیل هزینه بالا و وقت گیربودن واردکتابهای فارماکوپه نشده است ودر دست بررسی می باشد. لذا جهت تحقیقات بیشتر در این خصوص بهتر است موارد فوق نیز در خصوص تهیه بیزواکس استاندارد در نظر گرفته شود و روشی جهت شناسایی اینگونه مواد احتمالی نیز پیشنهاد گردد.

****

منابع

۱. پروانه و. کنترل و آزمایشهای شیمیایی مواد غذایی، انتشارات دانشگاه تهران ۱۳۷٤؛ ص: ۸۲-۱۹۷.

2. Tulloch AP. Composition of some natural waxes, Cosmetics and Perfumery 1974; 89: 53-4.

3. Tulloch AP. The composition of beeswax and other waxes secretcd by insects [1,2]; Lipids 1970; 5: 247- 58.

4. Coggshal WL, Morse RA. Beeswax production, harvesting and products, Wicwas Press Ithaca NY USA 1984; P: 192.

5. Abrutyn E. Beeswax: vanishing cosmetic raw material, Drug Cosmet Ind 1980; 127: 136- 8.

6. Patel S, Nelson DR, Gibbs AG. Chemical and physical analyses of wax ester properties Insect Sci 2001; 14: 1-7.

7. Tulloch AP. Bees- wax- composition and analysis, Bee World 1980; 61: 47–62.

8. Puleo SL. Beeswax Cosmetics & Toiletries 1987; 102: 57-8.

9. Cordes G. Preparation and testing of a sustained release codeine preparation, Drugs Made in Germany 1970; 13: 92-6.

10. Chowdary KP, Sastry VH. Microencapsulation of diclofenac, comparison of durg release from various microcapsules, Eastern Pharmacist 1987; 40: 119- 22.

11. Brenal JL, Nozal, MJ, Toribio L, Jimenez JJ, Atienza J. High performance liquid chromatography determination of benomyl and carbendazim residues in apiarian samples J Chromatography A 1997; 787: 129-36.

12. Nozal MJ, Brenal JL, Jimenez JJ, Gonzalez MJ, Higes M. Extraction of thymol, eucalyptol, menthol, and camphor residues from honey and beeswax, J Chromatography A 2002; 954: 207- 15.

13. British Pharmacopoea, 1st International ed, London, HMSO, 1998; p: 58.

* آدرس نویسنده مسئول: ساری، دانشکده داروسازی، گروه فارماسیوتیکس ۰۱۵۱-۳۲۵٤۰٦۰.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1383.6.4.2.8]