

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

دکتر حسین عسگری راد^{۱*}، دکتر فرشته پورمراد^۲، دکتر خدیجه اکبری^۳

۱- استادیار گروه فارماسیوتیکس دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۲- استادیار گروه شیمی دارویی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مازندران ۳- داروساز

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

مواد و روشها: ابتدا موم تهیه شده توسط زنبور عسل (*Apis 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 بی رنگ 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.

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

نتیجه گیری: موم زرد و سفید بهاره با استفاده از روش ذوب کردن به کمک آب داغ در حرارت کمتر از ۸۵°C به دلیل مقرون به صرفه بودن و نیز نتایج یکسان در مقایسه با موم استاندارد فارماکوپه انگلستان جهت تهیه موم دارویی پیشنهاد می گردد.

واژه های کلیدی: موم زنبور عسل، *Apis mellifera*، موم زرد، موم سفید، استخراج.

مقدمه

موم ها از دسته لیپیدها بوده و از نظر رفتار روان پذیری مواد شبه پلاستیک می باشند (۱). موم ها به انواع مختلف از جمله موم های حقیقی، استری، معدنی، هیدروکربنی، صناعی و موم های متفرقه تقسیم می گردند. موم های حقیقی، از استرالکل ها و اسید های چرب با وزن مولکولی بالا تشکیل می شوند که موم زنبور عسل (*Bees wax*) در این گروه قرار دارد (۲). موم زنبور عسل ماده ایست که بوسیله غدد زیر شکمی زنبورهای کارگر از گونه های مختلف

(*Apis mellifera*) از خانواده آپیده و در سنین بخصوصی از سیزدهمین تا هیجدهمین روز پس از تولد آن ترشح می شود. موم جسمی است به شکل قطعات، ورقه های سفید یا زرد مایل به سفید که در دمای مختلف هوا حالت های متفاوتی دارد، در هوای سرد، سخت و شکننده بوده و در هوای گرم متناسب با درجه های مختلف دما، نرم و نرم تر می گردد و در ۶۵°C ذوب و در ۲۵۰°C بخار می شود (۳). روش های مختلفی برای استخراج موم خالص، از موم زنبور عسل

سپس در دمای کمتر از 85°C حرارت داده تا موم کاملاً ذوب شود، آنگاه موم ذوب شده جهت جداسازی ناخالصی‌های 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 گردید و بدین ترتیب موم سفید حاصل شد.

بررسی خواص فیزیکی شیمیائی موم زرد و سفید مطابق

فارماکوپه انگلستان

نقطه ذوب

مقداری موم در بشر ۲۵ میلی لیتری روی بن ماری گذاشته و دماسنج 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 $(n_1 - n_2)/w$ که $28/0.5$ W وزن ماده بر حسب گرم می باشد محاسبه گردید که بدین منظور به ۴۰ میلی لیتر زایلن ۲ گرم موم در داخل بالن در حین حرارت، ۶۰ میلی لیتر اتانل ۹۶٪ و سپس به آن ۰/۵ میلی لیتر محلول فنل فنل اتانل اضافه شد و با محلول پتاس ۰/۵ مولار تا بدست آمدن رنگ قرمز ثابت به مدت ۱۰ ثانیه تیترو گردید (n_1). تیتراسیون تا مشاهده رنگ ثابت ادامه داده شد (n_2).

موجود می باشد (۴-۶). موم زنبور عسل، حداقل شامل ۲۸۴ ترکیب مختلف از قبیل منواسترها، هیدروکربنها، اسیدهای چرب آزاد، دی استرها و الکل‌های چرب آزاد است که اغلب آنها ترکیبات فرار می باشند. تعدادی از این ترکیبات (۴۸ نوع) مسئول بوی خوش موم زنبور عسل می باشند (۳ و ۷ و ۸). امروزه کاربرد موم زنبور عسل به عنوان ماده امولسیون کننده، قوام دهنده، نرم کننده، جلاء دهنده در قرص سازی، حامل در فرآورده‌های آرایشی - بهداشتی، فیلم در سیستم‌های آهسته رهش (sustained released) و پوشاندن طعم بد دارو در داروسازی اهمیت زیادی دارد (۹ و ۱۰).

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 (۱۱ و ۱۲). جستجوی ترکیبات خارجی در موم زنبور عسل به دلیل صرف وقت زیاد و هزینه بالا هنوز وارد فارماکوپه های دارویی نشده است.

از آنجائیکه بیزواکس هنوز به عنوان ماده جانبی دارویی 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 فتالین، پارافین، دی کرومات 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 حاوی ۴۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد و

تعیین اندیس صابونی

اندیس صابونی مطابق فرمول $(n_2 - n_1)/w$ که W وزن ماده بر حسب گرم می باشد محاسبه گردید. پس از حل کردن ۲ گرم موم در زایلین 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 و سپس محلول فنل فتالین به آن اضافه شد. تیتراسیون مخلوط گرم با اسید کلریدریک ۰/۵ مولار انجام شد (n_2). حجم n_1 با استفاده از تیتراسیون ۲۵ میلی لیتر محلول الکلی پتاس با محلول ۰/۵ مولار اسید کلریدریک بدست آمد. اندیس استری از تفریق اندیس اسیدی صابونی و Ratio 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 و ۹۵/۵٪، با استفاده از الکل به ترتیب ۹۲/۲ و ۹۳/۷٪ و با استفاده از حلال اتر به ترتیب ۹۳/۷ و ۹۴٪ می باشد.

همچنین راندمان محصول های بدست آمده موم زرد پاییزه، بوسیله آب داغ، اتر و الکل ۹۰٪ به ترتیب ۸۹/۵، ۸۹/۵، ۹۲/۵٪ و راندمان موم زرد بهاره، بوسیله آب داغ، اتر و الکل ۹۰٪ به ترتیب ۹۵، ۹۰ و ۹۰٪ می باشد. در این مطالعه ارزش صابونی و ارزش استری موم زرد پاییزه تهیه شده با آب داغ در محدوده استاندارد فارماکوپه BP می باشد ولی ارزش اسیدی و Ratio 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 با آب، نقطه ذوب، ارزش اسیدی، ارزش صابونی Ratio number با مقادیر استاندارد فارماکوپه مطابقت دارد. موم سفید پاییزه 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 فارماکوپه BP مشاهده می گردد (جدول ۲).

جدول ۱. نتایج انجام آزمایشات مطابق فارماکوپه BP بر روی موم زرد زنبور عسل (پاییزه و بهاره)

نوع آزمایش	نقطه ذوب	ارزش اسیدی	ارزش صابونی	ارزش استری	Ratio number
حلالهای مختلف					
موم زرد استاندارد ^b	۶۱ - ۶۵°C	۱۷ - ۲۲	۸۷ - ۱۰۲	۷۰ - ۸۰	۳/۳ - ۴/۳
موم زرد پاییزه استخراج با آب	۶۲/۵ ± ۰/۴۴۷ ^a	۱۶/۶۰ ± ۰/۲۷۴۸	۹۰/۶۰ ± ۰/۶۸	۷۴/۱۱ ± ۰/۵۴۶	۴/۴۶ ± ۰/۰۶
موم زرد پاییزه استخراج با اتر	۶۰/۷ ± ۰/۵۷	۱۷/۲۷ ± ۱/۳۳	۸۳/۶۴ ± ۱/۶۸	۶۶/۳۶ ± ۲/۰۱۸	۳/۸۶ ± ۰/۳۴۹
موم زرد پاییزه با اتانل ۹۰	۵۹/۲ ± ۱/۰۳۶	۸/۷۵۱ ± ۱/۰۵	۸۱/۹۰ ± ۱/۰۵۶	۷۳/۱۵ ± ۲/۰۸	۸/۶۶ ± ۲/۰۲۶
موم زرد بهاره استخراج با آب	۶۲/۴ ± ۰/۳۷	۱۷/۱۶ ± ۰/۶۷	۹۰/۸۸ ± ۰/۵۶	۷۳/۷۱ ± ۱/۰۹۸	۴/۳ ± ۰/۰۲۲
موم زرد بهاره استخراج با اتر	۶۱/۴ ± ۰/۴۱۸۳	۱۷/۲۷ ± ۰/۹۲۱	۸۰/۵۰ ± ۴/۷۱	۶۳/۲۲ ± ۵/۰۴	۳/۶۷ ± ۰/۴۸۱
موم زرد بهاره با اتانل ۹۰	۶۰ ± ۰/۷۹	۱۱/۲ ± ۱/۱۶	۷۲/۹۳ ± ۲/۲۱	۶۱/۷۱ ± ۲/۲۶	۵/۵۳ ± ۰/۶۵

a کلیه داده ها نماینده $\text{mean} \pm \text{SD}$ می باشد، b اندیسهای فیزیکی شیمیائی موم زرد مطابق فارماکوپه BP

جدول ۲. نتایج انجام آزمایشات مطابق فارماکوپه BP بر روی موم سفید زنبور عسل (پائیزه و بهاره)

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

a کلیه داده ها نماینده mean±SD میباشد، b اندیسهای فیزیکی 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 باشد. 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 آزمایشگاه ها و در صنعت انجام شده است که به دلیل باقیمانده حلال در محصول نهائی، مناسب نمی باشد (۴-۶). 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 می باشد. 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 نمی باشد، 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 ۸۵ °C 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 می دهد. در حال حاضر استاندارد کردن موم دارویی، با استفاده از روشهای ذکر شده در کتب فارماکوپه صورت می گیرد. تحقیقات امروزی نشان می دهد که به دلیل آلودگی کندهای زنبور عسل با مواد مختلف (حشره کشها مانند بنومیل، اسیدهای آلی و روغن های فرار مثل تیمول و مواد دیگر موجود در محیط زیست) بهتر است به

جستجوی اینگونه مواد نیز در موم پرداخته تا از استاندارد بودن آن اطمینان حاصل گردد (۹ و ۱۰). تاکنون موارد ذکر شده بدلیل هزینه بالا و وقت گیر بودن وارد کتابهای فارماکوپه نشده است و در دست بررسی می باشد. لذا جهت تحقیقات بیشتر در این خصوص بهتر است موارد فوق نیز در خصوص تهیه بیواکس 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 ۱۳۷۴؛ ص: ۸۲-۹۷.
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 secreted by insects^{1,2}; *Lipids* 1970; 5: 247- 58.
4. Coggsal 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 drug 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.