مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هفدهم، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۱، صفحات ۱۰۷-۹۹

بررسی اثر ضد میکروبی بره‌موم منطقه طالقان بر برخی از باکتری‌های بیماریزای غذازاد

نسیم علمائیان[۱] ، ولی اله کوهدار[۲]، سید هدایت حسینی[۳]

۱- گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

۲- نویسنده مسئول: گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، پست الکترونیکی: dr.koohdar@gmail.com

۳- گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی ، انستیتو تحقیقات تغذیه ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۲/۴

چکیده

سابقه و هدف: بره‌موم (پروپولیس) یکی از فرآورده‌های مؤثر در مقابل باکتری‌های غذازاد (food-borne bacteria) است که ترکیبات شیمیایی آن با توجه به موقعیت جغرافیایی و پوشش گیاهی منطقه متغیر می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر ضدباکتریایی عصاره الکلی بره‌موم منطقه طالقان بر چهار باکتری بیماری‌زای غذازاد انجام گردید.

مواد و روش‌ها: پس از تهیه بره‌موم، عصاره اتانولی آن گرفته شد. برای آنالیز و تعیین مواد و ترکیبات موجود در عصاره‌ها از روش HPLC (کروماتوگرافی با بازده بالا) استفاده گردید. سپس آزمون‌های میکروبی به روش انتشار در آگار و روش چاهک به منظور تعیین میزان تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره بره‌موم بر میکروب‌های مورد مطالعه انجام شد. داده ها با کمک آزمون‌های آماری تست دو جانبه فیشر (Fisher) و آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: بیشترین ممانعت از رشد (قطر هاله) باکتری‌های سالمونلا و استافیلوکوکوس آرئوس مربوط به غلظت ۱۰۰ mg/ml و کمترین آنها مربوط به غلظت ۷۵ mg/ml عصاره بود و برای باکتری‌های اشریشیاکلی و کمپیلوباکترژوژنی بیشترین قطر هاله، مربوط به غلظت ۱۰۰ mg/ml و کمترین آنها مربوط به غلظت ۵۰ mg/ml عصاره بره‌موم بود. برای هر یک از باکتری ها در بازه مشخصی از غلظت‌های عصاره مورد مطالعه، خاصیت مهارکنندگی وجود داشت اما برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عصاره مورد نظر در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۶/۲۵ (میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) خاصیت مهارکنندگی از خود نشان داد، با این تفاوت که در غلظت ۱۲/۵ (میلی‌گرم بر میلی لیتر) نتیجه MBC خلاف جهت نتیجه MIC را نشان داد. افزایش قطر هاله در غلظت بالاتر در همه گروه‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: تأثیر ضد میکروبی عصاره بره‌موم بر باکتری‌های بیماری‌زای مورد بررسی، به شکل چشمگیری مشاهده شد.

واژگان کلیدی: اثر ضد میکروبی، بره‌موم، اشریشیا کلی و کمپیلوباکتر، پاتوژن، سالمونلا و استافیلوکوکوس آرئوس

• مقدمه

بره‌موم (propolis) یک ماده رزینی طبیعی است که توسط زنبور عسل از مواد استخراجی از گیاهان، شکوفه ها و صمغ ها ساخته می‌شود. زنبور ابتدا تکه‌های صمغ تراوش شده از جوانه یا شکوفه یا تنه برخی از درختان را به و سیله قطعات دهانی و پای خود جمع آوری و داخل سبد گرده نموده و به کندو حمل می‌کند. سپس با بزاق و آنزیم‌های مترشحه از غدد بزاقی زنبور عسل ترکیب و ماده چسبناکی را تولید می‌کند که در کندو به عنوان درزگیر، صیقل دهنده سطوح داخل کندو، ضدعفونی کننده سلول‌های مومی قبل از تخم‌گذاری ملکه و مومیایی نمودن لاشه‌های مهاجمان استفاده می‌شود. ترکیب شیمیایی بره‌موم به متغیرهایی از جمله آب و هوای محیط اطراف کندو، پوشش گیاهی موجود در محل جمع آوری، گونه زنبور سازنده و روز و فصل جمع آوری عسل بستگی دارد. به طور میانگین بره‌موم از حدود ۵۰ درصد صمغ یا رزین گیاهان، ۳۰ درصد موم، ۱۰ درصد اسیدهای چرب ضروری، ۵ درصد گرد گل و ۵ درصد دیگر آن از ترکیبات آلی، ویتامین‌ها و عناصر معدنی مانند: نقره، سدیم، جیوه، مس، منگنز، آهن، کلسیم، وانادیم و سیلیس تشکیل شده است. بره‌موم بخاطر داشتن ترکیباتی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]

مانند فالونوئید، ترپنوئید و فنولیک دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و ضد قارچی بوده و به عنوان ماده نگهدارنده به مواد بسته‌بندی غذایی اضافه می شود (۱). بیش از ۱۵۰ ترکیب مختلف از جمله ترپنوئیدها، پلی‌فنل‌ها، استروئیدها و اسیدهای آمینه و آلی در بره‌موم موجود می‌باشد که بر اساس تغییرات آب و هوایی این ترکیبات می‌توانند متفاوت باشد (۲). به‌عنوان مثال، در بره‌موم مناطق معتدل، بیشترین ترکیبات فعال بیولوژیکی پلی‌فنل‌ها، ازجمله اسیدهای فنلیک و فالونوئیدها هستند (۴، ۳). مصرف روزافزون از بره‌موم نیاز به روش‌های مناسب برای تعیین کمّی اجزای فعال آن دارد و ازاین رو، روش‌های کروماتوگرافی امکان جداسازی و اندازه‌گیری تمام اجزای آن را میسر می سازد (۳). جهت استخراج این مواد، لازم است که از حلال مناسب استفاده شود و مواد زائد و بی‌فایده حذف گردد و پس از خالص‌سازی عصاره‌ی آن تهیه شود (۶، ۵، ۳).

بیماری هایی با منشاء غذایی (غذازاد) ناشی از میکروارگانیسم‌ها یک مشکل بهداشت عمومی بزرگ و در حال رشد می‌باشد، اکثر کشورهایی که سیستم ثبت و گزارش بیماری‌های غذازاد را دارند افزایش مشخص و بارزی در میزان وقوع این بیماری‌ها بوسیله میکروارگانیسم‌ها در مواد غذایی را مستندسازی و گزارش کرده‌اند. این عوامل بیماری‌زا شامل سالمونلا، کامپیلو باکترژئوژنی و اشرشیاکلی و انگل‌هایی مثل کریپتوسپوریدیم، و ترماتودها می‌باشند (۷). یافته ها نشان می‌دهد بره‌موم به علت خصوصیات ضد باکتریایی، ضدعفونی کنندگی می‌تواند در کاهش التهاب مؤثر باشد (۸، ۶). همچنین بررسی‌های بالینی نشان داده اند که بره‌موم علاوه بر داشتن خواص ضد سرطانی با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی، در افزایش عملکرد سیستم ایمنی و مهار رشد پاتوژن ها نقش به سزایی می‌تواند داشته باشد (۱۰-۸).

با توجه به موارد یاد شده و اهمیت شناخت راهکارها و درمان‌های ضد میکروبی سالم مطالعه ی حاضر با هدف بررسی اثر ضد میکروبی بر موم بر ۴ میکروارگانیسم بیماریزای غذازاد *استافیلوکوکوس آرئوس (Staphylococcus aureus)* گرم مثبت، *کمپیلوباکتر(Campylobacter jejuni)* گرم منفی، *سالمونلا(Salmonella)* گرم منفی و *اشریشیاکلی (Escherichia coli)* گرم منفی، انجام شد.

• مواد و روش‌ها

استخراج عصاره الکلی بره‌موم: نمونه های بره‌موم از کندوهای زنبور عسل واقع در چند منطقه ی طالقان در آبان‌ماه ۱۳۹۹ جمع‌آوری شد. مقدار ۲۰ گرم بره‌موم در ۱۰۰ میلی لیتر اتانل ۸۰ درصد حل گردید. به منظور تصفیه، محلول الکل و بره‌موم از کاغذهای واتمن عبور داده، به منظور تبخیر اتانول از محلول و تخلیص بره‌موم حاصل، از دستگاه روتاری اواپراتور Lab TechEV311 استفاده گردید. عصاره خالص شده در ظرف در بسته، به دستگاه فریز درایر (ALPHA2-4 LD plus) جهت خشک کردن منتقل شد. برای تعیین قطر هاله عدم رشد با استفاده از روش براساس انتشار در آگار و به روش چاهک، ابتدا ۵/۲۵ میلی گرم عصاره خشک شده بره‌موم حاصل (با وزن مخصوص ۱,۴گرم) ۱ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد حل کرده و عصاره اتانولی تهیه شد.(اتانول پس از قرار گرفتن شاهد و مشاهده عدم ایجاد هاله رشد به عنوان حلال مناسب انتخاب شد) محلول به دست آمده از فیلتر میکروبی ۰/۲۲ میکرون عبور داده شد تا کاملاً استریل شود. برای کنترل منفی، محیط کشت و عصاره بره‌موم، قرار داده شد. برای کنترل مثبت از سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت استفاده شد (۱۱).

تهیه سوش‌های میکروبی: میکروارگانیسم‌های مورد استفاده در این مطالعه که عبارتند از سه گونه باکتری گرم منفی اشریشیا کلی (ATCC 25920)، کمپیلوباکتر ژژونی (ATCC33291) و سالمونلا (ATCC 13076) و یک گونه باکتری گرم مثبت، استافیلوکوکوس آرئوس (ATCC 29213) به صورت خشک شده به روش انجمادی(لیوفلیزه) از سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید. نمونه های میکروبی مطابق با روش‌های استاندارد احیا شد (۱۲). تراکم سوسپانسیون میکروبی تلقیحی با استفاده از روش نیم مک فارلند استاندارد گردید. بدین منظور برای تهیه سوسپانسیون میکروبی از کشت تازه و جوان باکتری چند کلنی به محیط کشت مولرهینتون آگار منتقل شد. سپس میزان جذب محلول استاندارد نیم مک فارلند در طول موج ۶۲۵ نانومتر خوانده شد (کدورت معادل $۱/۵\times۱۰^{۸}$ در هر میلی‌لیتر). در مرحله بعد لوله ها یی که برای استاندارد کردن تلقیح باکتریایی استفاده شده است و حاوی سولفات باریم بودند، جهت خوانش جذب در ۶۲۵ نانومتر مورد استفاده قرارگرفت (۱۱).

آنالیز عصاره بره‌موم: برای آنالیز مواد شیمیایی و متابولیت‌های موجود در عصاره‌ها از روش HPLC (کروماتوگرافی با بازده بالا) استفاده گردید. در این مرحله، ابتدا بره‌موم در اتانول حل شد و وارد ستون کروماتوگرافی گردید و تحت فشار بالا جریان یافت. سپس اجزای سازنده بره‌موم باتوجه به میزان بر هم کنش آنها با فاز ساکن که براساس قطبیت آنها انجام می‌شود، در ستون جداسازی شدند و هر

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]

کدام یک نوار را در ستون تشکیل دادند. هر دسته از این ترکیبات پس از خارج شدن از ستون و رسیدن به آشکارساز با یک پیک در کروماتوگرام نشان داده شدند و ماهیت هر پیک با استفاده از زمانی که به آشکارساز رسید، مشخص شد. هم چنین میزان غلظت هر ترکیب با استفاده از اندازه سطح زیر پیک یا ارتفاع پیک اندازه‌گیری گردید.

آزمون های میکروبی: باکتری های مورد در محیط کشت BHI به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس طبق دستورالعمل احیا شدند. سپس با کمک آزمون‌های ریخت شناسی تحت آزمایشات رنگ آمیزی گرم، کاتالاز، اکسیداز و اوره آز مورد شناسایی قرارگرفت (۱۳).

ارزیابی آزمون های ضدمیکروبی عصاره الکلی بره‌موم براساس انتشار در آگار و به روش چاهک انجام گرفت. بدین صورت که تعدادی چاهک به وسیله انتهای پیپت پاستور استریل به قطر ۶ میلیمتر در سطح هر محیط کشت ایجاد شد. سپس انتهای چاهک‌ها برای جلوگیری از نفوذ و گسترش اسانس به کف پتری دیش ها به وسیله آگار مذاب مسدود گردید. از کشت ها به منظور تهیه سوسپانسیون‌های باکتریایی با کدورتی معادل نیم مک فارلند در سرم فیزیولوژی استریل استفاده شد. در این روش با استفاده از سمپلر ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتریایی معادل نیم مک فارلند در چندین نقطه از سطح محیط کشت ریخته شد، سپس توسط اسپریدرال شکل بر سطح محیط کشت پخش گردید. در مرحله بعدی، درون چاهک ها با سمپلر، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره بره‌موم با رقت های مختلف (۱۰۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) توسط فیلتر میکرون ریخته شد. چاهک وسط به عنوان چاهک شاهد در نظر گرفته شد. محیط‌های کشت باکتریایی در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیونگذاری شدند، در نهایت هاله بازدارندگی در محیط اطراف چاهک ها با در نظر گرفتن قطر چاهک توسط خط‌کش اندازه‌گیری و به صورت میلی‌متر ثبت شدند. برای کمپیلوباکتر همین رویه ولی با استفاده از محیط کشت مذکور انجام شد. دو چاهک آخر که یکی حاوی سوسپانسیون میکروبی و محیط کشت می‌باشد و به عنوان کنترل مثبت و چاهک دیگر حاوی محیط کشت و عصاره بره‌موم به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شدند.

سنجش میزان MIC و MBC: کمترین غلظت مهارکنندگی MIC و حداقل غلظت حذف کنندگیMBC بره‌موم به روش میکرودایلوشن انجام شد. برای این منظور رقت‌های مختلف نمونه که در محیط کشت مولر هینتون براث تهیه شد. در لوله‌های هر ردیف، صد میکرولیتر از غلظت مربوط، به هر لوله اضافه شد. در تمام لوله ها به استثناء یک لوله، صد میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری اضافه گردید. در کنار این لوله‌ها، لوله کنترل مثبت (سوسپانسیون باکتری معادل ۵×۱۰۵CFU/ml و محیط کشت) و لوله کنترل منفی (محیط مولر هینتون براث بدون باکتری و عصاره بره‌موم) قرار داده شد. بلافاصله بعد از کامل شدن، جذب لوله ها در دستگاه الایزا ریدر در طول موج ۶۳۰ نانومتر قرائت گردید. سپس لوله ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد و مجدداً جذب آن توسط دستگاه الایزا خوانده شد. اولین چاهک بدون کدورت (که جذب نوری آن تغییر نکرده بود به عنوان حداقل غلظت بازدارنده رشد (MIC) گزارش شد. MBC با توجه به نتایج MIC تعیین شد. بدین منظور برای تعیین MBC میزان ۵ میکرولیتر از چاهک‌هایی لوله های مربوط به MIC که رشد باکتری متوقف شده بود به پلیت حاوی محیط کشت مولر هینتون آگار منتقل شد و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه گذاری در دمای ۳۷ درجه پلیت ها از نظر رشد بررسی و آخرین غلظتی که در پلیت مربوط به آن، فاقد رشد باکتری بودند به عنوان مقادیر MBC گزارش شدند. به منظور تأیید نتایج، آزمایشات سه بار تکرار گردید.

همچنین برای سنجش میزان MIC و MBC کمپیلوباکتر از محیط کشت اختصاصی آن استفاده گردید. به این صورت که رقت‌های مختلف نمونه در محیط کشت مخصوص تهیه شد و در ادامه در مجاورت سوسپانسیون باکتری معادل ۵×۱۰۵CFU/ml هریک از باکتری های مورد مطالعه به مدت ۲۴ ساعت و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرارگرفت. در کنار این لوله ها، لوله کنترل مثبت (سوسپانسیون باکتری) و لوله کنترل منفی (محیط کشت مخصوص بدون باکتری و بره‌موم) قرار گرفت و خوانش جذب توسط دستگاه الایزا در ۶۳۰ نانومتر انجام شد.

برای تعیین MBC از هر یک از لوله های فوق در محیط کشت اختصاصی (بروسلا آگار) کشت داده شد و آخرین رقتی که در آن کلنی مشاهده نشد به عنوان MBC شناسایی گردید. در کل آزمون ضد میکروبی از داروی کلرامفنیکل به عنوان شاهد دارویی استفاده گردید. لازم به ذکر است که برای اطمینان همه آزمون ها سه بار تکرار شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های به دست آمده از انجام آزمایش، از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ و آنالیز تست آزمون دو طرفهٔ فیشر (که به بررسی وجود ارتباط و یا مستقل بودن دو کمیت گروه‌بندی شده، می‌پردازد)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]

ا ستفاده شد و با ا ستفاده از آزمون آنالیز واریانس (ANOVA) برر سی‌های آماری انجام پذیرفت و در مقادیر کمتر از ۵ صدم به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شدند.

• یافته‌ها

ترکیبات تشکیل دهنده عصاره برهموم: برای بررسی ترکیبات تشکیل دهنده عصاره برهموم از روش HPLC استفاده شد که نتایج آن در جدول ۱ آورده شده است. فنل ها و فلاونوئیدها که از جمله ترکیبات تشکیل دهنده برهموم هستند نه تنها اثرات آنتی اکسیدانی بالایی دارند بلکه بر میکروارگانیسم‌ها هم اثر گذا شته و باعث تخریب یا ممانعت از رشد آنها می‌گردند. میزان کل ترکیبات فنلی و نیز محتوی ترکیبات فلاونوئیدی در نمونه‌های برهموم مورد استفاده به ترتیب ۵/۵۴ درصد وزنی بر حسب اسید گالیک و ۱۳/۴۴ درصد وزنی بر حسب کوئرستین به دست آمد.

جدول ۱. جدول ترکیبات تشکیل دهنده برهموم

ترکیبات فنلیک	زمان بازداری(دقیقه)	درصد وزنی(٪)
گالیک اسید	۴۳/۰۵	۵/۵۴
کافئیک اسید	۴۱/۷۵	۳/۳۵
کاتچین	۴۰/۸۰	۶/۵۶
اپیکاتچین	۳۸/۲۹	۱۱/۷۲
لوتئین	۳۷/۴۴	۲/۵۹
کوئرستین	۳۹/۵۰	۱۳/۴۴
ژنیستئین	۳۷/۱۲	۵/۳۳
کرایسین	۴۳/۶۰	۳/۶۲
گالانجین	۳۳/۵۴	۲۱/۶۲
آپی ژنین	۵۱/۵۸	۱۵/۷۱
کورکومین	۴۲/۷۲	۸/۲۰
ترکیبات دیگر	۴۱/۹۳	۲/۳۲

قطر هاله عدم ر شد باکتری‌های مورد برر سی در نتیجه اعمال عصاره برهموم: برای همه باکتری‌های این تحقیق بین غلظت‌های مختلف عصاره مورد مطالعه اختلاف معنی داری وجود دارد و با افزایش غلظت عصاره خاصیت ضد میکروبی نیز افزایش پیدا می کند (جدول۲). در بررسی اثر ساده عصاره بر قطر ممانعت از رشد باکتری سالمونلا مشخص شد که بیشترین قطر هاله (۱۳ میلی‌متر) مربوط به غلظت 100 mg/ml عصاره می‌باشد و کمترین آن‌ها مربوط به غلظت ۷۵mg/ml درصد عصاره برهموم با قطر هاله ۹ میلی‌متری می‌باشد. همچنین درمورد باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بیشترین قطر هاله (۱۴ میلی‌متر) مربوط به غلظت ۱۰۰ mg/ml عصاره می‌باشد و کمترین آن‌ها مربوط به غلظت ۵۰ mg/ml عصاره با قطر هاله ۶ میلی‌متری می‌باشد. برای باکتری ا شر شیاکلی بیشترین قطر هاله (۱۳ میلی‌متر) مربوط به غلظت ۱۰۰ mg/ml عصاره‌ی می‌باشد و کمترین آن‌ها مربوط به غلظت ۵۰ mg/ml عصاره برهموم با قطر هاله ۸ میلی‌متری می‌باشد و در مورد اثر ساده عصاره بر قطر ممانعت از رشد کمپیلو باکتر مشخص شد که بیشترین قطر هاله (۱۶ میلی‌متر) مربوط به غلظت mg/ml ۱۰۰ عصاره‌ی مورد مطالعه می‌باشد و کمترین آن‌ها مربوط به غلظت ۵۰ mg/ml عصاره برهموم با قطر هاله ۹ میلی‌متری می‌باشد.

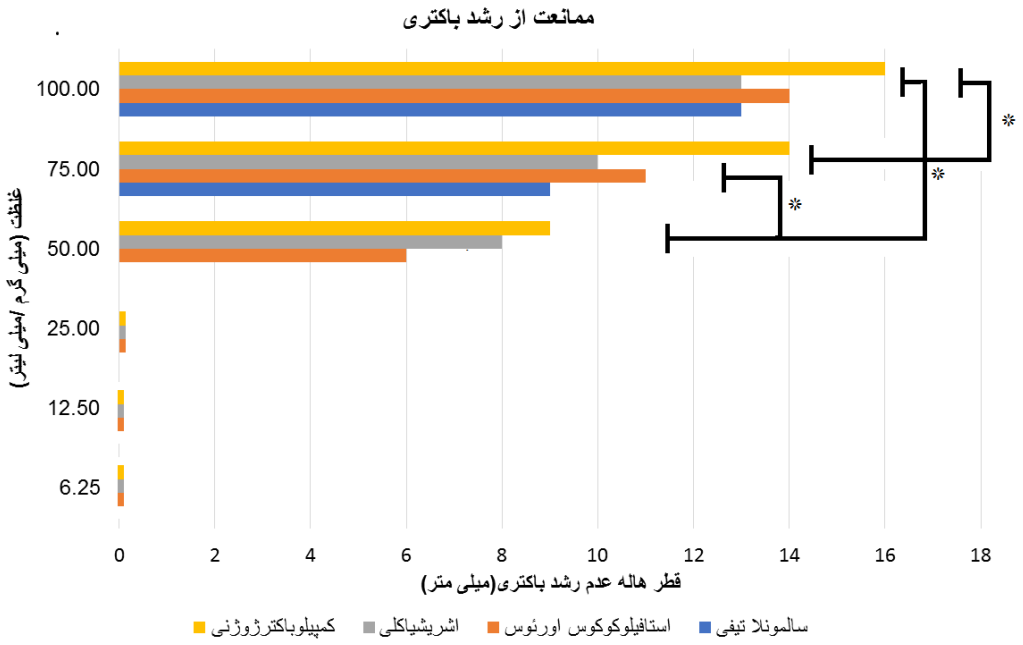
غلظت‌های بیشتر از ۵۰ (میلی‌گرم/میلی‌لیتر) عصاره برهموم، بیشترین قطر هاله عدم رشد را برای *کمپیلوباکترژوژنی* و کمترین قطر هاله عدم رشد را برای *سالمونلا تیفی* نشان می‌دهد (شکل ۱). همچنین مشخص شد که بیشترین قطرهاله عدم رشد تمام باکتری‌ها مربوط به غلظت ۱۰۰ (میلی‌گرم/میلی لیتر) عصاره برهموم و کمترین آنها مربوط به غلظت ۲۵ (میلی‌گرم/میلی لیتر) عصاره مورد مطالعه می‌باشد. یافته‌ها نشان داده که افزایش قطر هاله در غلظت بالاتر از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<۰/۰۵$).

جدول۲. نتایج قطر هاله عدم رشد باکتری‌های تحقیق در محیط مولر هینتون آگار تحت تیمار و محیط کشت اختصاصی کمپیلوباکتر با غلظت‌های مختلف عصاره برهموم

قطر هاله عدم رشد باکتری(میلی متر)	غلظت عصاره برهموم (میلی گرم/میلی لیتر)						میانگین (میلی گرم/میلی لیتر)
	۶/۲۵	۱۲/۵	۲۵	۵۰	۷۵	۱۰۰	۴۴/۷۹
سالمونلاتیفی	۰	۰	۰	۰	۹	۱۳	۱۱
استافیلوکوکوس اورئوس	۰	۰	۰	۶	۱۱	۱۴	۱۰/۳۳
اشرشیاکلی	۰	۰	۰	۸	۱۰	۱۳	۱۰/۳۳
کمپیلوباکتر	۰	۰	۰	۹	۱۴	۱۶	۱۳

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]



شکل ۱. مقایسه نتایج ممانعت از رشد باکتری‌های مورد مطالعه در غلظت‌های مختلف عصاره برەموم، * سطح معنی‌دار کمتر از ۵ صدم

میزان MIC و MBC: همان طور که جدول ۳ نشان می‌دهد، برای هر یک از باکتری ها در بازه مشخصی از غلظت‌های عصاره مورد مطالعه، خاصیت مهارکنندگی وجود دارد و مقادیر MBC تأیید کننده این موضوع می‌باشد؛ اما برای باکتری استافیلوکوکوس اورئوس عصاره مورد نظر در غلظت‌های ۱۰۰ تا ۶/۲۵ (میلی‌گرم بر میلی لیتر) خاصیت مهارکنندگی از خود نشان داد و نتایج MBC هم تأیید کننده این موضوع بود، با این تفاوت که در غلظت ۱۲/۵ (میلی‌گرم بر میلی لیتر) نتیجه MBC خلاف جهت نتیجه MIC را نشان داد و ثابت کرد که در این غلظت باکتری توان رشد همراه با عصاره را دارد.

جدول ۳. مقادیر مربوط به MIC و MBC عصاره برەموم علیه باکتری‌های مورد مطالعه

سویه مورد مطالعه	MIC (میلی گرم/میلی لیتر)	MBC (میلی گرم/میلی لیتر)
سالمونلا تیفی	۵۰	۵۰
استافیلوکوکوس اورئوس	۶/۲۵	۱۲/۵
اشریشیاکلی	۱۲/۵	۱۲/۵
کمپیلوباکترژوژنی	۵۰	۵۰

• بحث

برەموم، یک نام عمومی برای مواد صمغی جمع‌آوری شده توسط زنبور عسل از جوانه منابع گیاهی است (۱۴) فلاونوئیدها، اسیدهای معطر، اسیدهای دی ترپنیک، و ترکیبات فنلی به عنوان اجزای اصلی که مسئول فعالیت‌های بیولوژیکی نمونه‌های برەموم هستند، ظاهر می‌شوند (۱۵). میان مقدار کل فالونوئیدها و فعالیت بیولوژیکی و ضدمیکروبی در برەموم همبستگی معنی‌داری وجود دارد (۱۷، ۱۶). بررسی ما نشان می‌دهد برەموم دارای ۳۵/۷۴ درصد ترکیبات فنلی می‌باشد و بیشترین درصد مربوط به گالانجین است. میزان کل ترکیبات فنلی و نیز محتوی ترکیبات فلاونوئیدی در نمونهٔ برەموم مورداستفاده به ترتیب ۵/۵۴ درصد (برحسب اسید گالیک) و ۱۳/۴۴ درصد (برحسب کوئرستین) به‌دست آمد. نتایج به‌دست آمده از ترکیبات به دست آمده در این تحقیق با مطالعات قبلی مشابه بود (۲۱-۱۸).

طی مطالعه حاضر بررسی خواص ضد میکروبی نشان می‌دهد که غلظت‌های بیشتر از mg/ml ۵۰ عصاره برەموم، بیشترین قطر هاله عدم رشد را بر کمپیلوباکترژوژنی وکمترین قطر هاله عدم رشد را برای سالمونلا تیفی نشان می‌دهد. این در حالی است که بیشترین قطرهاله عدم رشد تمام باکتری ها مربوط به غلظت ۱۰۰mg/ml عصاره ی برەموم و کمترین آنها مربوط به غلظت mg/ml ۲۵ عصاره موردمطالعه گزارش شد. در واقع میزان اثر ضد باکتریایی برەموم بسته به نوع و جنس میکروارگانیسم ها متفاوت می‌باشد. طی مطالعات مشابه Bartkiene و Daikh گزارش شده که باکتری‌های گرم مثبت به غلظت کم برەموم حساس هستند و باکتری‌های گرم منفی

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]
[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]

را فقط می‌توان با دوز بالاتر بره‌موم مهار نمود (۲۳، ۲۲). پیشنهاد شده است که مقاومت باکتری‌های گرم منفی می‌تواند به دلیل وجود پمپ های خروجی باشد که از ورود اجزای بره‌موم به داخل سلول جلوگیری می‌کند. اثر ضعیف بر روی باکتری‌های گرم منفی را می‌توان با این واقعیت نیز توضیح داد که بره‌موم عمدتاً حاوی مواد تشکیل دهنده رزین‌های گیاهی است و رزین ها توسط گیاهان ترشح می‌شوند تا بیشتر از عوامل بیماری زا گرم مثبت محافظت کنند (۲۴). بررسی ها نشان می‌دهد که بره‌موم می‌تواند اثرات هم افزایی با داروهای ضدمیکروبی داشته باشد. این ماده می‌تواند ماکروفاژها را فعال کرده، فعالیت میکروب‌کشی آنها را افزایش دهد و نیز تولید آنتی‌بادی‌ها را تحریک کند. بره‌موم به علت داشتن فالوونوئیدهایی مانند کوئرستین و روتین دارای خاصیت ضد میکروبی بوده که مکانیسم بازداری این ترکیبات به مهار پلیمراز باکتری برمی‌گردد (۲۵).

نتایج این تحقیق نشان داد که باکتری گرم مثبت استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به دو باکتری گرم منفی اشریشیاکلی و سالمونلا حساسیت بیشتری را به عصاره بره‌موم نشان داد. یافته‌های Uzel و همکاران نیز در مطالعه خود نشان دادند که عصاره‌ی الکلی بره‌موم روی باکتری‌های گرم مثبت تأثیر قابل‌توجهی داشته و تقریباً رشد همهٔ باکتری‌های مورد آزمایش را به‌صورت معنی‌داری مهار نموده است. برخلاف باکتری های گرم مثبت، بره‌موم بر رشد باکتری‌های گرم منفی تأثیر معنی‌داری نداشت (۲۶). وجود لایه پلی ساکاریدی دیواره و نیز فضای پری پلاسمیک از دلایل مهم این مقاومت نسبی گرم منفی ها می‌باشد که با نتایج حاصل از آزمون چاهک در این تحقیق مطابقت دارد. البته قابل ذکر است که در میان میکروارگانیسم‌های مورد مطالعه در این تحقیق، کمپیلوباکتر جزو آن دسته از باکتری‌های گرم منفی است که با وجود گرم منفی بودن و مقاومت نسبی به آنتی بیوتیک‌های رایج نسبت به غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی بره‌موم دارد. (۲۹-۲۷).

در تحقیق ما برای سالمونلا تیفی، استافیلکوکوس آرئوس و کمپیلوباکتر میزان MIC و MBC یکسانی بدست آمد که این نشان دهنده قدرت بالای بره‌موم در خاصیت کشندگی (*bactericidal*) این میکروارگانیسم ها می‌باشد. هرچه میزان MIC به MBC نزدیکتر باشد میزان کشندگی آن ماده مؤثره بیشتر می‌باشد. Widelski و همکاران در سال ۲۰۲۲ در بررسی فعالیت آنتی باکتریایی بره‌موم روی *هلیکوباکتر پیلوری* مشاهده کردند که در غلظت یکسان عصاره بره‌موم برای این باکتری میزان MIC و MBC یکسان درآمده است (۳۰).

یافته‌های دیگر نیز این مسئله را نشان داده اند (۳۲، ۳۱). Al-Waili و همکاران در مطالعه‌ای مشابه نشان دادند که بره‌موم و عسل فعالیت ضد باکتری علیه استافیلوکوکوس اورئوس دارد و استافیلوکوکوس اورئوس در مقایسه با باکتری گرم منفی اشریشیا کلی برای باکتری MBC و MIC حساسیت بیشتری دارد (۳۱).

در این مطالعه همچنین مشاهده می‌شود (جدول۳) که مقدار MIC برای هر چهار میکروارگانیسم نسبت به نتایج گذشته بالاتر بود (۲۶). این امر می‌تواند به پایین بودن محتوای ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در این نمونه باشد.

به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بره‌موم مورد آزمایش دارای اثرات ضد باکتریایی قابل قبولی بود. بررسی MIC و MBC عصاره بره‌موم علیه باکتری‌های مورد بررسی به شکل چشمگیری خاصیت مهارکنندگی این عصاره را نشان می‌دهد. مقایسهٔ نتایج گزارش‌شده محققین با مقادیر گزارش‌شده درتحقیق حاضر بیانگر مقدار پایین ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی موجود در نمونهٔ بره‌موم مورد مطالعه است. باتوجه‌به اینکه بره‌موم مورد مطالعه از منطقه‌ی طالقان جمع‌آوری شده است و همچنین نظر به این نکته که استان البرز در سال‌های اخیر با کاهش بارش و نزولات جوی روبه‌رو بوده است، احتمال داده می‌شود که شرایط آب وهوایی و جغرافیایی استان البرز در سال‌های اخیر بر خصوصیات بره‌موم‌های منطقه تأثیر گذاشته باشد.

بره‌موم اثر ضد میکروبی قابل توجهی بر باکتری های *سالمونلا تیفی*، *اشریشیاکلی*، *کمپیلوباکترژوژنی* داشت. اما در رابطه با *استافیلوکوکوس* این اثر کمتر است. این در حالی است که اثربخشی بره‌موم بر روی باکتری‌های گرم مثبت نسبت به باکتری‌های گرم منفی بیشتر است و همچنین میزان غلظت عصاره الکلی در عملکرد ضد میکروبی و مهار رشد باکتری مهم می‌باشد. این بررسی برای اولین بار نشان داده است که عصاره بره‌موم طالقان بر پاتوژن‌های آزمایشگاهی مؤثر است؛ بنابراین از بره‌موم می‌توان در درمان‌هایی که نسبت به آنتی بیوتیک‌ها مقاوم شده و یا دچار عواض جانبی ناشی از مصرف داروهای شیمیایی قرار می‌گیرند، به عنوان مکمل استفاده نمود. پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتر در مورد غلظت مناسب و ایمن بودن بره‌موم به عنوان مکمل دارویی انجام شود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]

• References

1. Shabani M, Mokhtarian M, Kalbasi-Ashtari A, Kazempoor R. Effects of extracted propolis (Apis mellifera) on physicochemical and microbial properties of rainbow-trout fish burger patties. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2021:45(12). https://doi.org/10.1111/jfpp.16027.

2. Socha R, Juszczak L, Pietrzyk S, Gałkowska D, Fortuna T, Witczak T. Phenolic profile and antioxidant properties of Polish honeys: Antioxidant properties of honeys. Int J Food Sci Technol [Internet]. 2011;46(3):528–34. Available from: http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02517.x

3. Tosic S, Stojanovic G, Mitic S, Pavlovic A, Alagic S. Mineral composition of selected Serbian Propolis samples. J Apic Sci [Internet]. 2017;61(1):5–15. Available from: http://dx.doi.org/10.1515/jas-2017-0001

4. Kashi J, Kermanshahi K, Erfan R, Dastjerdi V, Rezaei E, Tabatabaei Y. Evaluating the In-vitro Antibacterial Effect of Iranian Propolis on Oral Microorganisms. Iran J Pharm Res. 2011;10:363–8.

5. Franklin R, Cockerill III, Matthew A, Wikler MBA, Fidsa J, Michael N. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard-Ninth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute M07-A9. 2012;32.

6. Katirciolu H, Mercan N. Antimicrobial activity and chemical compositions of Turkishpropolis from different regions. African Journal of Biotechnology. 2006;5:1151–3.

7. Pourjafar S, Mashak Z, Mirzaei M. The survey of microbial properties in commercial ready-to-eat foods at manufactures and hypermarkets in Alborz province. . Journal of Food Microbiology,Y,2021. 8(1),73-87.

8. Chethana GS, Venkatesh H, Gopinath KR. Preliminary phytochemical analysis of Clerodendrum inerme. International Research Journal of Pharmacy. 2013;4(5):208–9.

9. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. Apidologie (Celle) [Internet]. 1995;26(2):83–99. Available from: http://dx.doi.org/10.1051/apido:19950202

10. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food Chem [Internet]. 2004;84(3):329–39.

11. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests- Approved Standard, Eleventh Edition; M02–A11, Vol. 32 No. 1, January 2012

12. Brown A., Smith H., Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology, 2014, McGraw-Hill Education

13. Sánchez-Moreno C, A. Larrauri J, Saura-Calixto F. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related polyphenolic constituents. Food Res Int [Internet]. 1999;32(6):407–12.

14. Chethana, GS, Hari Venkatesh KR, Gopinath S.M. Preliminary phytochemical analysis of Clerodendrum inerme. International Research Journal of Pharmacy 2013;4(5): 208-209.

15. Mutlu Sariguzel F, Berk E, Koc AN, Sav H, Demir G. Antifungal activity of propolis against yeasts isolated from blood culture: In vitro evaluation. J. Clin. Lab. Anal. **2016**, 30, 513–516.

16. Moreira L, Dias LG, Pereira JA, Estevinho L. Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal. Food Chem Toxicol [Internet]. 2008;46(11):3482–5.

17. Silva JC, Rodrigues S, Feás X, Estevinho LM. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. Food Chem Toxicol [Internet]. 2012;50(5):1790–5.

18. Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troullidou E, Mourtzinos I, Karathanos VT. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chem [Internet]. 2009;116(2):452–61.

19. Kim JI, Pant HR, Sim H-J, Lee KM, Kim CS. Electrospun propolis/polyurethane composite nanofibers for biomedical applications. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl [Internet]. 2014;44:52–7.

20. Shahedi M. Study on antimicrobial effect of propolis extract on some foodborne pathogenic bacteria[dissertation]. [Shahrekord Branch]: PhD Thesis in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University; 2011[in Persian].

21. Anjum SI, Ullah A, Khan KA, Attaullah M, Khan H, Ali H, et al. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi J Biol Sci [Internet]. 2019;26(7):1695–703.

22. Bartkiene E, Lele V, Sakiene V, Zavistanaviciute P, Zokaityte E, Dauksiene A, et al. Variations of the antimicrobial, antioxidant, sensory attributes and biogenic amines content in Lithuania-derived bee products. LWT-Food Sci. Technol. 2020; 118, 108793.

23. Daikh A, Segueni N, Dogan NM, Arslan S, Mutlu D, Kivrak I, et al. Comparative study of antibiofilm, cytotoxic activity and chemical composition of Algerian propolis. J. Apicult. Res. 2020, 59, 2.

24. Seidel V, Peyfoon E, Watson DG, Fearnley J. Comparative study of the antibacterial activity of propolis from di_erent geographical and climatic zones. Phytother. Res. 2008, 22, 1256–1263

25. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y, Bankova V, Christov R, Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. J Ethnopharmacol [Internet]. 1999;64(3):235–40. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/s0378-8741(98)00131-7.

26. Uzel A, Sorkun K, Onçağ O, Cogŭlu D, Gençay O, Salih B. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. Microbiol Res [Internet]. 2005;160(2):189–95.

27. Sharifa AA, Neoh YL, Iswadi MI, Khairul O, Abdul Halim M, Jamaludin M, et al. Effects of Methanol, Ethanol and Aqueous Extract of Plantago major on Gram Positive Bacteria, Gram Negative Bacteria and Yeast. Annals of Microscopy. 2008.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]

28. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. Microbiol Mol Biol Rev [Internet]. 2003;67(4):593–656.

29. Boukraa L, Aitabderrahim L. Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Méndez-Vilas A, editor. Antimicrobial Properties of Bee Products and Medicinal Plants. 2013;2:960–70.

30. Widelski J, Oki´ nczyc P, Paluch E, Mroczek T, Szperlik J, Z˙ uk,, M, et al. The Antimicrobial Properties of Poplar and Aspen–Poplar Propolises and Their Active Components against Selected Microorganisms, including Helicobacter pylori. Pathogens 2022, 11, 191.

31. Vicˇa ML, Glevitzky M, Heghed˝u¸s-Mîndru R.C, Glevitzky I, Matei H, Balici S, et al. Potential Effects of Romanian Propolis Extracts against Pathogen Strains. Int. J. Environ. Res. Public Health 2022, 19, 2640.

32. Al-Waili N, Al-Ghamdi A, Ansari MJ, Al-Attal Y, Salom K. Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Candida albicans isolates in single and polymicrobial cultures. *Int J Med Sci*. 2012;9(9):793-800. doi:10.7150/ijms.4722.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]

Assessment of the Antimicrobial Effects of Propolis from Taleghan Region on Foodborne Pathogenic Bacteria

Olamaeian N[1], Kouhdar V[2], Hosseini H[3]*

1- Department of Health and Food Quality Control, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran

*2-*Corresponding author: Department of Health and Food Quality Control, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran*

3- Department of Food Science and Technology, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received 30 Jan, 2022 **Accepted 24 Apr, 2022**

Background and Objectives: Propolis is one of the effective products against foodborne bacteria, which chemical composition varies based on the geographical location and vegetation of the region. The aim of this study was to investigate antibacterial effects of the alcoholic extract of propolis of Taleghan region on four bacteria, disease and food poisoning.

Materials & Methods: After preparing propolis, its alcoholic extract was collected. High pressure liquid chromatography was used to analyze substances and compounds of the extract. Then, microbial assessments were carried out using agar diffusion and well methods to assess effects of various concentrations of propolis extract on the bacteria. Data were analyzed using Fisher's exact test and analysis of variance.

Results: The maximum growth inhibitions of Salmonella and Staphylococcus aureus occurred at concentrations of 100 and 75 mg/ml of the extract. The minimum growth inhibition belonged to the concentration of 50 mg/ml of bromine extract. For each of the bacteria in a certain range of the extract concentrations, inhibitory characteristics and minimum bactericidal concentration values verified this. For Staphylococcus aureus, desired extract in concentrations of 100–6.25 mg/ml showed inhibitory characteristics with a difference that at a concentration of 12.5 mg/ml, minimum bactericidal concentration results were in contrast to minimum inhibitory concentration results.

Conclusion: Antimicrobial effects of the bromine extract on the pathogenic bacteria were demonstrated in the present study.

Keywords: Antimicrobial effects, *Escherichia coli* and *Campylobacter*, Pathogens, *Salmonella* and *Staphylococcus aureus*

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2025-08-23]

[DOR: 20.1001.1.17357756.1401.17.2.10.2]