دراسة مقارنة لتأثير العسل الطبيعي والتجاري في نمو بعض الأنواع البكتيرية

أديبة يونس شريف [١] ، خنساء محمد يونس [٢] ، رنا ابراهيم محمد [٣]

[١-٢] قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

[٣] قسم علوم الحياة ، كلية التربية للبنات ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

(تاريخ الاستلام: ٧ / ٢ / ٢٠١١ ---- **تاريخ القبول:** ١١ / ٥ / ٢٠١١)

الملخص

تضمنت الدراسة اختبار الفعالية المضادة لكل من العسل التجاري والطبيعي على عدد من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام: Proteus mirabilis ,E. coli , Serratia marceccens , Staph. aureus. شملت الدراسة اختبار الفعالية التثبيطية للعسل حيث لم يكن هناك اي تاثير للعسل غير المخفف بنوعيه على الانواع البكتيرية قيد الدراسة، اما عند استخدام التخفيف 1:2 لنوعي العسل بينت النتائج ان هناك تاثير واضح ومتباين فبالنسبة للعسل الطبيعي اثر التركيز 1:2 على كل من بكتريا Serratia marceccens, Proteus mirabilis , E. coli وبقطر تثبيط (25,30,41) ملمتر على التوالي اي ان تاثيره الاكبر كان على بكتريا E. coli ، اما تاثير العسل التجاري عند التركيز 1:2 كان على كل من E. coli, Serratia marceccens , Staph.aureu , Proteus mirabilis, وبقطر تثبيط (20, 44 30, 10) ملمتر على التوالي. بعدها تم اعتبار التركيز 1:2 كتركيز قياسي وحضرت منه التراكيز الاخرى لاختبار تاثيرها على الانواع البكتيرية قيد الدراسة حيث ان اعلى فعالية للعسل الطبيعي كان عند التخفيف 1:4 على بكتريا Serratia marceccens وكان قطر التثبيط 35 ملمتر، اما اعلى فعالية للعسل التجاري كان عند التخفيف 1:4 على بكتريا Proteus mirabilis وكان قطر التثبيط 22 ملمتر.

المقدمة

يعد العسل اقدم ما استخدمه الانسان في تضميد الجروح ويعود تأريخ استخدامه الى مايقارب من ٤٠٠ سنة مضت فهو يمتاز بكونه واسع الانتشار في كل المجتمعات البشرية ان لم تكن كلها وبالرغم من ان الغموض مازال يكتنف الخصائص التركيبية للعسل وطرق تأثيره العلاجي هنا يظهر العسل كعلاج بديل ناجح (3,5) .نتيجة تطوير الجراثيم اليات المقاومة للمضادات المستخدمة في العلاج الطبي فقد قيد استخدام هذه المضادات وتوجهت الانظار نحو الاعشاب الطبية والطب البديل حيث استخدم العسل في علاج الكثير من الامراض (11). يتكون العسل من ١٧% ماء، ٣٨% فركتوز، ٣١% كلوكوز و١٠% سكريات اخرى ونسبة عالية من المغذيات تتمثل بـ (الفيتامينات، الاحماض الامينية والمعادن) اضافة الى بعض الانزيمات التي تضاف الى العسل اثناء تصنيعه من قبل النحل ومنها انزيم invertase والذي يحول السكروز الى كلوكوز وفركتوز لذلك يكون محتوى العسل من السكروز فقط ١% من المحتوى السكري ككل (8) والانزيم الاخر هو glucoseoxidase والذي يكون الكلوكونك اسيد وبيروكسيد الهيدروجين من تحلل الكلوكوز هذا الانزيم يكون غير فعال في العسل ويعاد تنشيطه عند تخفيف العسل ويعطى العسل فعاليته الضد ميكروبية (9،2،1). تشكل المعايير المستخدمة في توصيف العسل خطوة هامة في سبيل ضبط تجارة العسل واستهلاكه، سواءً على المستوى المحلي أو العالمي لذلك سعت منظمة الأغذية والزراعة الدولية لوضع مواصفات عالمية تطبق خاصة في التجارة الدولية للعسل فشكلت اللجنة العالمية لمواصفات العسل(International Honey Commission) IHC. وقد اعتمدت اللجنة على تحليل مئات (وأحياناً آلاف) عينات العسل من عدد من الدول وأدخلت بعض الاعتبارات المحلية في الحسبان فأصدرت التعديل السادس لمعايير مواصفات العسل العالمية الذي نورده هنا مقارناً مع المواصفات الأوروبية (5).

- نوع السكريات: بناءً على المعطيات الحديثة فإن قيمة مجموع الفركتوز والجلوكوز بحدود ٦٠غ/١٠٠غ للعسل الزهري، و٤٥غ/١٠٠غ لعسل الندوة العسلية (هو العسل الذي ينتج رئيسياً عن عمل النحل على المفرزات السكرية للحشرات الماصة لنسغ النبات أو على مفرزات الأجزاء الحية للنباتات). يعتبر ملائماً ويغطي ٩٩% من الأعسال. أما بالنسبة للسكّروز فالأمر مختلف وأكثر تعقيداً. المعيار العام هنا وهو ٥غ/١٠٠غ يمكن أن يغطي ٩٩% من الحالات مع استثناءات تتعلق بالأعسال الوحيدة الزهر مثل أعسال الحمضيات والفصة والروبينيا.
- نشاط الإنفرتيز(IN): نشاط أنزيم الإنفرتيز حساس بشكل خاص للتلف بالحرارة والتخزين و يستعمل معيار نشاط الإنفرتاز كمؤشر لطزاجة العسل من قبل عدد من منظمات النحالين في ألمانيا وبلجيكا وإسبانيا .
- المحتوى من البرولين: يشير محتوى العسل من البرولين على مدى نُضجه، وفي بعض الحالات على غشه بالسكر. المستوى الأدنى لمحتوى البرولين في العسل الأصيل هي ١٨٠مغ/كغ، وهي قيمة مقبولة في مختبرات مراقبة العسل.
- الانحراف الضوئي: القيمة العامة للانحراف الضوئي هي محصلة لقيم سكريات العسل المختلفة. تستعمل هذه القيم في اليونان وإيطاليا وبريطانيا للتمييز بين العسل الزهري وعسل الندوة العسلية. وقد وُجد في إيطاليا أن العسل الزهري له قيم سالبة، بينما عسل الندوة له قيم موجبة للانحراف الضوئي .

• نسبة المعادن (الرماد): تعتبر نسبة المعادن في العسل مُميزة للعسل النباتي الأصل عن عسل الندوة العسلية الذي يحتوي نسبة عالية من المعادن.

• الحموضة: تعتبر الحموضة معياراً هاماً لأنها تزداد إذا ما تعرض العسل للتخمر.

• نشاط الدياستاز (DN):

يتأثر نشاط انزيم الدياستاز بالتخزين والتسخين، لذلك فهو مؤشر لطزاجة العسل أو تعرضه للتسخين الزائد.

• هيدروكسي ميثيل فورفورال:

هذا المؤشر هو الأكثر دلالة على طزاجة العسل ومدى تعرضه للحرارة. العسل الطازج لا يحتوي عملياً على هذه المادة، لكنها تظهر وتزداد مع طول التخزين والتعرض للحرارة.

العسل الغير صالح لتغذية الإنسان هو الذي:

١. ليس له مذاق مُميَّز أو رائحة خاصّة،

٢. إذا كان مُتخمِّراً،

٣. إذا تعرّض لحرارة عالية،

٤. أن لا يكون نشاط أنزيم الدياستاز منخفضاً،

٥. وأن لا يكون محتواه من مادة الهيدروكسي ميثيل فورفورال أعلى من المُحدّد بالمواصفات.

دلت الملاحظات السريرية والدراسات المختبرية على ان للعسل فعاليه ضد ميكروبية ضد انواع كثيرة من البكتريا متضمنة البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام ويعود السبب لاحتواء العسل على المثبطات التي تتضمن بيروكسيد الهيدروجين والاحماض الفينولية وغيرها بالاضافة للتأثير الازموزي للعسل الناتج عن المكونات السكرية والمتسبب بتكسير الجدر الخلوية والجهد المائي القليل(17،16) بالاضافة الى الحموضة المنخفضة التي تتراوح من (3.6-4) واللزوجة العالية للعسل اللتي تمنع البكتريا من الاختراق وتكوين المستعمرات على سطوح الجروح (13،10)، وبينت دراسات اخرى اجريت من قبل كل من Reinbery و Joseph (6) ان للعسل فعالية مضادة لما يسمى باشكال الـ Biofilm فبعض انواع البكتريا المكونة لاشكال الـ Biofilm وخصوصا *Staph aureus* و *Ps. aeruginosa* والمسببة لالتهاب الجيوب الانفية والتي تكون مقاومة للمضادات الحيوية لتكوين الـ Biofilm الذي لايسمح لاختراق المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج فعند تسليط العسل على هذه الاشكال وجد ان للعسل فعالية اكبر في قتل هذه البكتريا اكثر من المضادات الحيوية المستخدمة.اتسعت مجالات البحث العلمي حول اهمية العسل لقدرته العالية في القضاء على مختلف الجراثيم ولكن لم تتطرق أي من هذه الدراسات الى تأثير تراكيز كل من العسل التجاري والطبيعي كمضاد للمايكروبات لغرض تقييم الفعالية التثبيطية للعسل الطبيعي والعسل التجاري وباستخدام التراكيز المختلفة لنوعي العسل التجاري والطبيعي على عدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

المواد وطرق العمل

١. الانواع الجرثومية المستخدمة:

استخدمت الانواع الجرثومية (E.coli , Proteus mirabilis , Staph.aureus , Serratia marcerecs).والمعزولة من حالات مرضية مختلفة، شخصت بأستخدام الفحوصات التشخيصية لكل نوع بالأعتماد على (12).

٢. العسل المستخدم:

استخدم نوعين من العسل، العسل الطبيعي (العسل الجبلي) والعسل التجاري المتوفر بالاسواق باسم (السنبلة) وقد امتاز العسل الطبيعي بانه كان اسمك قواما واغمق لونا من العسل التجاري.

٣. اختبار الفعالية التثبيطية للعسل:

تم استخدام طريقة الحساسية (طريقة الانتشار بالاقراص) حيث تم تحضير اقراص من ورق الترشيح مشبعة بالعسل غير المخفف والعسل المخفف بنسبة 2:1 والذي اعتبر تركيز قياسي. اجري الاختبار بتلقيح وسط المرق المغذي بالمستعمرات النقية للجراثيم وحضن بدرجة 37 مْ ولمدة ٢٤ ساعة، خفف المعلق الجرثومي بمحلول الملح الفسلجي المعقم للحصول على تركيز ١×٨١٠ خلية/سم٣ وذلك بالمقارنة مع انبوب ماكفرلاند رقم (٣) ، نشر 1سم٣ من المعلق الجرثومي على اطباق الاكارالمغذي باستخدام قضيب زجاجي بشكل حرف L معقم وتم اجراء ثلاث مكررات لكل معاملة ، تركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لغرض التشرب، وثبتت بعد ذلك الاقراص المشبعة بالتخافيف المختلفة للعسل ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة ٣٧مْ ولمدة (١٨-٢٤) ساعة وسجلت النتيجة بملاحظة مناطق التثبيط حول الاقراص والتي تم قياسها بالملم.

٤. تحديد التركيز المثبط الادنى(MIC) للعسل على الانواع الجرثومية:

تم تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) للعسل باجراء تخافيف مختلفة لكل من العسل الطبيعي (الجبلي) والتجاري حيث تم وزن 7gm\7mL من العسل وحضرت منه التخافيف الاتية: (24:1,20:1,16:1,10:1,8:1,4:1,) لنوعي العسل.

النتائج والمناقشة

ان لوجود انزيمات الاكسدة والاختزال في العسل مثل انزيم البروكسديز،الكتاليز والفوسفاتيز دور كبير في قتل الجراثيم اضافة لأنزيم اللاييز المحلل للدهون الموجود في جدران الجراثيم وانزيمات اخرى مثل الانفرتيز و الدايستيويز و الاميليز كما اشار الى ذلك ابو النجا سنة 1974 (3).تم دراسة تاثير نوعين من العسل الطبيعي والتجاري على النمو الميكروبي وذلك باستخدام العسل الطبيعي (الجبلي) بالأضافة الى العسل التجاري المتوفر في الاسواق (عسل السنبلة) على عدد من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، يشير الجدول (١) الى التأثير التثبيطي للعسل بنوعيه، اذ يلاحظ ان عند

استخدام العسل المركز بنوعيه الطبيعي والتجاري لم يكن هناك أي تأثير على الانواع الجرثومية قيد الدراسة وهذا يفسر ما قاله سيدنا محمد صلى الله عليه وسلم (الشفاء في ثلاثة شربة عسل وشرطة محجم وكية نار وانهي امتي عن الكي) وفي حديث اخر عن أبي سعيد الخدري رضي الله عنه قال: جاء رجل إلى رسول الله صلى الله عليه وسلم فقال: إن أخي استطلق بطنه، فقال: (اسقه عسلا) فسقاه عسلا، ثم جاء فقال: يا رسول الله سقيته عسلا فما زاده إلا استطلاقًا!، قال: (اذهب فاسقه عسلا)، فذهب فسقاه ثم جاء فقال: يا رسول الله ما زاده إلا استطلاقًا!، فقال رسول الله صلى الله عليه وسلم: (صدق الله وكذب بطن أخيك؛ اذهب فاسقه عسلا)، فذهب فسقاه فبرئ رواه البخاري. وثبت علمياً أن الماء يكتسب خواص المادة المذابة فيه، بمعنى أن جزيئات الماء تترتب حسب جزيئات العسل (٤) .لذلك تم دراسة تاثير التخفيف 1:2 والذي عد التركيز القياسي.وعند استخدام التخفيف 1:2 لنوعي العسل بينت النتائج ان هناك تأثير واضح ومتباين، فبالنسبة للعسل الطبيعي نلاحظ ان التركيز 1:2 اظهر فعالية تثبيطية على كل من بكتريا (Serratia marceccens, Proteus mirabilis, E. coli) اذ بلغت اقطار التثبيط (25,30,41) ملمتر على التوالي أي ان تأثيره الاكبر كان على البكتريا E. coli.

تحديد التركيز المثبط الادنى:

حضرت التراكيز (24:1,20:1,16:1,10:1,8:1,4:1) لدراسة تأثيرها على الانواع الجرثومية قيد الدراسة. ومن ملاحظة نتائج التراكيز الاخرى للعسل الطبيعي تبين ما يلي: اظهر التركيز 1:4 فعالية مضادة على بكتريا E. coli marceccens, Proteus mirabilis Serratia اذ بلغت اقطار التثبيط (20,35,30) ملمتر على التوالي واظهرت التراكيز1:8 و 1:16 فعالية مضادة للبكتريا Proteus mirabilis فقط اذ بلغت اقطار التثبيط (12,30) على التوالي ولم تظهر بقية التراكيز أي تأثير على الانواع البكتيرية ، اما نتائج تأثير العسل التجاري، فلقد كانت اقطار التثبيط للتركيز 1:2 على كل من بكتريا (Staph.aureus, Serratia marceccens, Proteus mirabilis, E.coli) (10,20,30,44) ملمتر على التوالي، اذ كان اكثر تاثيرا على بكتريا E.coli، اما نتائج التراكيز الاخرى، فيلاحظ ان التركيز1:4 كان مثبط فقط لنمو بكتريا Proteus mirabilis اذ كان قطرالتثبيط (22) ملمتر، ولم تظهر بقية التراكيز اي تأثير على الانواع البكتيرية قيد الدراسة وكما مبين في الجدول (٢)، والصور اللاحقة تبين نتائج دراسة التاثير المثبط. اظهرت النتائج اختلافات تأثير العسل على البكتريا، واكدت النتائج الى ان العسل يتميز بفعالية ضد مايكروبية ضد البكتريا الموجبة والسالبة الكرام وقد اقترحت عدة تفسيرات للآلية التي يؤثر بها العسل هذا الفعل قد يعود الى الازموزية المرتفعة للعسل اذ ان الفعالية المضادة للبكتريا شملت نوعي العسل، او لـ PH المنخفض (PH3.8) بسبب احتواءه على الماء الاوكسجيني، او لوجود الانزيمات في العسل او نتيجة لوجود مجموعة من المواد المثبطة للنمو البكتيري ، كذلك تطابقت النتائج مع دراسة Lee (3) في ان العسل المخفف يكون له تاثير اكبر من المركز وقد تكون اسباب ذلك هو ان التخفيف بالماء يجعل مغذيات العسل متاحة وبصورة ملائمة للبكتريا ، وكذلك لوجود انزيم glucoseoxidase والذي يكون الكلوكونك اسيد وبيروكسيد الهيدروجين من تحلل الكلوكوز هذا الانزيم يكون غير فعال في العسل ويعاد تنشيطه عند تخفيف العسل ويعطى العسل فعاليته الضد ميكروبية (9،2،1). تشير نتائج الدراسة الحالية الى أن اختلاف نوع العسل وتركيزه يؤدي الى اختلاف درجة تثبيط النمو البكتيري، ونلاحظ ان فعالية التثبيط لنوعي العسل تقل طردياً مع نقصان تركيز العسل على نمو الانواع البكتيرية وكذلك نلاحظ ان تأثير العسل التجاري كان اقل من الطبيعي بالنسبة للتراكيز المستخدمة وقد يعود السبب الى ان العسل التجاري يتعرض للحرارة والشمس عند اسالة العسل مما قد يؤدي الى تكسير المواد المثبطة للنمو البكتيري.

جدول (١) التأثير التثبيطي للعسل بنوعيه الطبيعي والتجاري

نوع العسل	التركيز المستخدم	الأنواع البكتيرية	اقطار التثبيط (ملمتر)
١. العسل الطبيعي	مركز	E.coli	–
		Proteus mirabilis	–
		Serratia marcesence	–
	1:2	E.coli	41
		Proteus mirabilis	30
		Serratia marcesence	25
		Staph aureus	–
٢. العسل التجاري	مركز	E.coli	–
		Proteus mirabilis	–
		Serratia marcesence	–
		Staph. aureus	–
	1:2	E.coli	44
		Proteus mirabilis	30
		Serratia marcesence	20
		Staph. aureus.	10

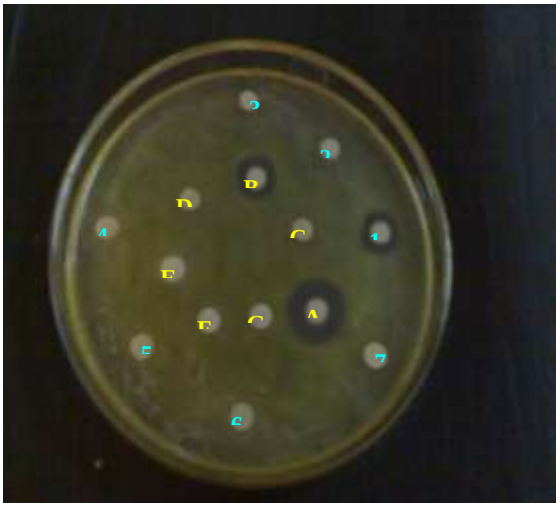
جدول (٢) التركيز المثبط الادنى للعسل بنوعيه الطبيعي والتجاري

نوع العسل	التركيز المستخدم	الانواع البكتيرية	اقطار التثبيط (ملمتر)
١. العسل الطبيعي	1:4	E.coli	30
		Proteus mirabilis	20
		Serratia marcesence	35
		Staph. aureus	–
	1:8	E.coli	–
		Proteus mirabilis	30
		Serratia marcesence	_
		Staph. aureus	–
	1:16	E.coli	_
		Proteus mirabilis	12
		Serratia marcesence	–
		Staph. aureus	–
	1:10 1:20 1:24	E.coli	–
		Proteus mirabilis	–
		Serratia marcesence	–
		Staph. aureus	–
٢. العسل التجاري	1:4	E.coli	–
		Proteus mirabilis	22
		Serratia marcesence	–
		Staph. aureus	–

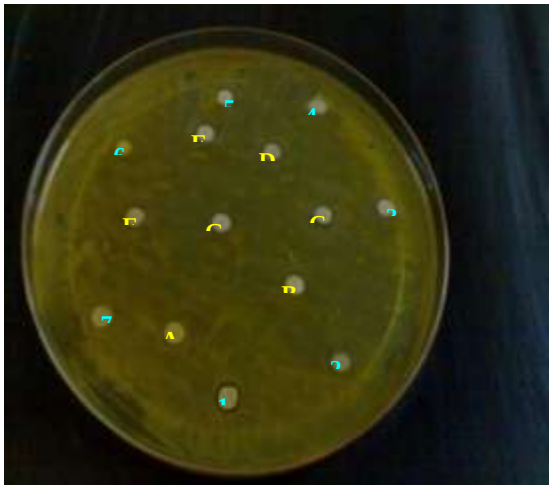
ISSN:1813 –

–	E.coli	1:8 1:10 1:16 1:20 1:24	
–	Proteus mirabilis		
–	Serratia marcesence		
–	Staph. aureus		

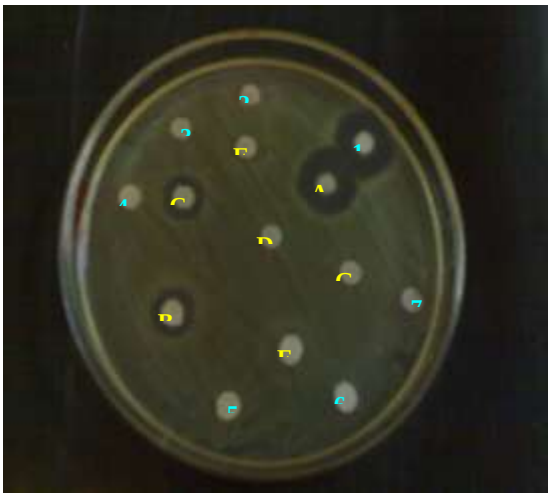
صور تبين تأثير تراكيز العسل الطبيعي والتجاري في نمو الانواع البكتيرية قيد الدراسة



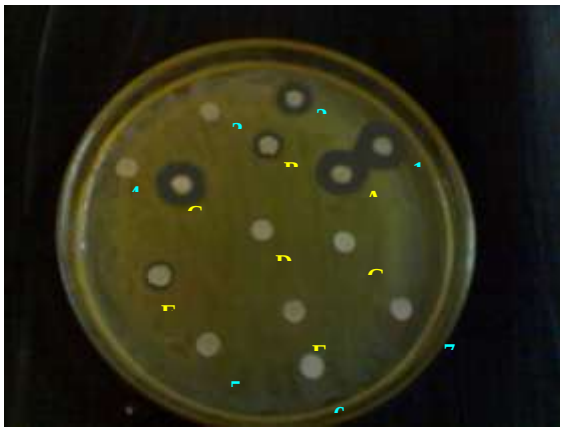
Serratia



Staph.



E. coli



Proteus mirabilis

تراكيز العسل الطبيعي A = 1: 2 , B = 1: 4 , C = 1: 8 , D = 1: 10 , E = 1: 16 , F = 1: 20 , G =1: 24

تراكيز العسل التجاري 1 = 1: 2 , 2 = 1: 4 , 3 = 1: 8 , 4 = 1: 10 , 5 = 1: 16 , 6 = 1: 20 , 7 = 1: 24

المصادر

١. الجبوري، رسمية عمر سلطان، ٢٠٠٠، التحري عن انزيمات بيتا – لاكتاميز لعدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام المعزولة سريريا وتأثير بعض المركبات الكيمياوية المحضرة على هذه الجراثيم، رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

٢. قصري، مدني، ١٩٩٥، المضادات الحيوية ونمو السلالات البكتيرية المقاومة، مجلة الدواء العربي، ١٠: ٨٢–١٠١.

٣. عبد اللطيف، محمد عباس وابو النجا، احمد محمود، ١٩٧٤، عالم النحل ومنتجاته، دار المطبوعات الجديدة، الاسكندرية.

٤. قاموس الغذاء والتداوي بالنباتات: تأليف أحمد قدامة . دار النفائس . الطبعة الثانية1990 م

٥. مردود ، طارق ، ٢٠١٠ ، معايير مواصفات العسل العالمية ، رئيس اللجنة الفرعية لجمعية النحالين السوريين بمحافظة الرقة .

6. Reinberg , S. and Joseph , G.M., A Honey of a sinusitis treatment Health day News , University of Ottawa(2008) .

7. Allen , K. L. ; Molan , P.C. and Reid , G.M. J. pharma. Pharmacol. 43 , 817-822(1991).

8. White , J.W., Composition of honey. In honey: a comprehensive survey , edited by E. crane. London: Heinemann(1975).

9. Jones , H. R., Honey and healing through the ages in honey and healing , edited by P.A. Munn and H.R. Jones. Cardiff , UK: IBRA (2001). .

10. Molan , P.C. Bee world. 73(1): 5-28(1992a).

15. White ,J.W. Composition of honey. In Honey: a Comprehensive Survey, edited by E. Crane. London: Heinemann(1975).
16. Lee, J., The Effect of Wasabi, Honey, and Vinegar on the Area of Zone of Inhibition on *Staphylococcus aureus* Colonies, Woodbridge High School (2009) .
17. Bogdanov , s. and Martin, p., Hony Authenticity: a Review, swiss Bee Research centre , PP. 1-20 . (2002) .
11. Subrahmanyam , M. ; Archan , H. and pawar , S. G. Annals of Burns and fire Disaster , Vol. XIV- n.1 – march (2001).
12. Koneman , E.W. ; Allen , S.D. ; Janda, W.M. ; Schreckenberger , P.C. and Jr, W.C.W., Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincorr Raven publisher, Philadelphia, PP. 121-163(1997). .
13. Molan, P. C. American Journal of Clinical Dermatology 2 (1):13-19. 2001a.
14. Molan , P.C. Hamilton , New Zealand(2001b).

A comparative study of the effect of natural and trade honey in the growth of some bacterial species

Sheriff A. Y.[1] , Younis K. M.[1] , Mohammad R. I.[2]
[1] *Departement of Biology , College of science , Mosul university, Mosul , Iraq*
[2] *Departement of Biology , College of Education for Girls , Mosul university , Mosul , Iraq*
(Received: 7 / 2 / 2010 **---- Accepted:** 11 / 5 / 2011)

Abstract
The study includes the inhibitory activity of both natural and traditional hony on the some of gram positive and gram negative bacteria including (proteus mirabilis , E.coli , serratia marcecens and Staph. aureus). The study showed the abcence of inhibitory activity of both types of un diluted hony on all types of tested bacteria after dilution of both type of honey at aratio of 1:2 . The result showed different effect for each one , the effect of 1:2 of natural honey on bacteria (E.coli , proteus mirabilis , Serratia marcecens) were (41 , 30 , 25)mm respectivily , that mean the largest effect was on the E.coli , while the effect of the traditional honey at the same concentration on the bacteria (E.coli , proteus mirabilis , Serratia marcecens , Staph. aureus) were (44, 30, 20, 10) mm consequently. The concentration 1:2 was considered as measurable concentration . other concentration were prepared and its effects was tested on the bacteria under study , the largest effect of the natural honey was showed to be on Serratia marcecens at dilution 1:4 and the zone of inhibition was 35mm , while the largest effect of traditional honey on the bacteria proteus mirabilis at dilution 1:4 and the diameter was 22mm