زيادة كفاءة عسل المن في تثبيط بكتيريا *Staphylococcus aureus* بواسطه خلطه بالزيت الطيار المستخلص من نبات العرعر

صالح على محمد العبيد الله

كلية الزراعة – جامعة عمر المختار

الملخـــص

فى هذا البحث تم تقييم تأثير عسل المن وهو عسل يجمع النحل رحيقه من أزهار نبات العرعر *Juniperum communis* الذي ينمو في منطقة الجبل الأخضر بليبيا، وكذلك مخلوط هذا العسل مع الزيت الطيار المستخلص بالتقطير من أوراق النبات الخضراء بنسبة 1 إلى 100 أي 1 ملم-زيت طيار إلى 100 مل من العسل النقي المستخلص من خلايا النحل في فترة تزهير نبات العرعر. حيث امكن اجراء المقارنة بين تأثير كل من العسل منفردا والعسل المخلوط بالزيت الطيار بالمقارنه مع المضاد الحيوى فى تثبيط البكتيريا والتى اتضح منها أن خلط العسل بالزيت الطيار يؤدى إلى رفع كفاءة العسل التثبيطية للبكتيريا *Staphyllococcus aureus* وذلك من خلال اتخاذ عدد المستعمرات النامية في الطبق كمؤشر على هذا التاثير وكذلك قياس قطر المنطقة الخالية من النمو حول القرص المشبع بالعسل نظرا لزيادة قدرة العسل بعد خلطه مع الزيت الطيار على الإنتشار في البيئة وهذه النتيجة تعتبر مفيدة في رفع كفاءة استخدام العسل عند معالجة الجروح والحروق من خلال ازدياد انتشاره في أنسجة الجروح او الحروق المتقيحه مما يمكن من تثبيط نمو الميكروبات التي يكون لها تاثير كبير فى عدم التئام الجروح،علاوة على ان الدهون الغير مشبعة بالزيت الطيار يكون من شأنها امتصاص المواد السامة والعناصر الثقيلة التي تقلل من سرعة الالتئام.

المقدمـــه

يتكون العسل من الرحيق الذي يجمعه النحل من الأزهار ويعمل على زيادة تركيزه بتبخير نسبة كبيرة من الماء الموجود فيه وتحويل معظم المواد الكربوهيدراتية الثنائية والعديدة التسكر فيه إلى سكريات أحادية ثم خزنه بعد ذلك في العيون السداسية للأقراص الشمعية هذا الرحيق Nectar الذى تجمعه شغالات نحل العسل عبارة عن سائل سكري تفرزه مجموعة من الخلايا الغدية Nectaries في أنواع كثيرة من النباتات الزهرية و عادة توجد هذه الغدد بداخل الأزهار عند قواعد البتلات غالباً بالإضافة إلى هذة الغدد الرحيقية الزهرية توجد في بعض أنواع النباتات غدد رحيقية أضافيه Extra floral nectarines عادة ما تكون على السطوح السفلى للأوراق وخارج الكؤوس الزهريه كما في نبات القطن والخروع والفول.

ويحتوى الرحيق عادة على ثلاث أنواع من السكريات وهي السكروز والجلوكوز والفركتوز بنسب متفاوتة علاوة على العديد من السكريات الأخرى بتركيزات بسيطه وبعض المواد كالدكسترين والإنزيمات والفيتامينات والبروتينات والخمائر والزيوت الطيارة والصموغ والأحماض العضوية والمواد المعدنية بالاضافه الى ان في بعض أنواع الرحيق توجد مواد تكسبها رائحةخاصة مثل استر انثرانيلات methrl anthranilate الذي يوجد في رحيق الموالح (البمبي 2001).

وتعتمد جودة العسل من الناحية الغذائية والعلاجية على المصدر الرئيسي للعسل اى النبات الذى يتم منه جمع الرحيق ففي دراسة لـ Mishref وآخرون معه (1989) تم فيها استخدام خلاصة بعض النباتات الطبية مثل نبات *Pelargonium graveolens* و *Matricaria chamomilla* ونبات *Margorana hortensis* في تغذية نحل العسل مع عصير السكر و تقييم تأثيرها على أنواع مختلفة من البكتيريا ولمدة 8 أسابيع، وجد أن انواع الاعسال المنتجه كان لها تأثير تثبيطي متفاوت ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus* وبكتيريا *Escherichia coli* وبكتيريا *Bacillus Subtilis* وكان التأثير الأشد للعسل المنتج من اضافه مستخلص نبات *Martecaria chamomilla* يليه نبات *Pelargonium graveolens* ثم نبات *Margorana hortensis* وكانت بكتيريا *Staphylococcus aureus* هى الأكثر حساسية مقارنة بالنوعين الآخرين.

كما اختبر Cortopassi و Gelli (1991) عدة أنواع من عسل النحل تم تقسيمها إلى مجموعتين (A ، B) تبعاً لنوع النحل و أماكن ونوع النبات. حيث وجد فى اعسال المجموعة الأولى ان متوسط المحتوى المائي لها 19.2% بينما كانت هذة النسبة في المجموعة الثانية 25.1% و ان فاعليتها كمضاد للبكتيريا أقوى من فاعليه المجموعة الأولى.

وفي دراسة أخرى لـ Feres وآخرون معه (2005) امكن تقييم فعالية بعض المستخلصات النباتية والبربوليس على البكتيريا المعزولة من الفم فى عينات من لعاب لأشخاص بعد زراعتها على الوسط الزرعي حيث امكن التوصل الى ان استخدام مستخلص نبات المرمريه مع البروبوليس كان له فعاليه متميزة كما أظهرالبروبوليس فعالية عالية ضد البكتيريا المعزولة من اللعاب.

كذلك استخدم Teixeira وآخرون معه (2005) عسل النحل والبربوليس ضد العديد من البكتيريا المعزلة من الحالات المختلفه لإلتهاب الجروح حيث امكن تثبيط هذه البكتيريابكفائه عاليه وشفاء تلك الجروح.

وبصفه عامه يعتقد أن الفعالية المضادة لنمو الميكروبات ترجع لحد كبير إلى وجود مركبات نباتية أشهرها الزيوت الطيارة Volatile Oils وهي زيوت تتبخر أو تتطاير دون أن تتحلل وهذا ما يميزها عن الزيوت النباتية Fixed Oils التى لا تتطاير إذا عرضت للتبخير أو التسخين، أما الزيوت الطيارة أو ما يطلق عليها بالزيوت العطريه Aromatic Oils نظراً لرائحتها العطرية الجميلة أو بالزيوت الأثيرية Ethereal Oils نظراً لذوبانها في الأثير، كما تسمى ايضا بالزيوت الأساسية Essential Oils. وتنتشر الزيوت الطيارة في أكثر من ألفي نبات تمثل حوالي ستين فصيلة نباتية وتتركز بصفة خاصة في بعض الفصائل التي من أهمها القرفية Luraceae والشفوية Labiatea والخيمية Umbelliferae والسنذبية Rutaceae والمركبة Compositae والإسيه Myrataceae والفصيلة الصنوبرية Pinaceae. وتتكون الزيوت الطيارة فى النباتات أثناء عمليات التحول الغذائي Metabolism كناتج ثانوي منها وتتجمع في تركيبات وعائية خاصة Specialized secretory structures مثل الشعيرات الغدية Glandular hairs كمافي نباتات الفصيلة الشفوية Labiatea أو في غدد زيتية Oil glands أو في قنوات زيتية Oil vittae كما في نباتات الفصيلة الخيمية Umbelliferae ولما

كانت هذه الزيوت متطايرة ويسهل فقدها على درجة حرارة الجو فإن التركيبات النباتيه التي تحتويها تكون مجهزة بجدران مناسبة تمنع تطايرها. وتوجد الزيوت الطيارة إما في جميع أجزاء النبات أو أجزاء معينة منه كالأوراق مثل نبات النعناع Peppermint أو في بتلات الأزهار مثل نبات الورد Rose (قطب، 1979).

المواد وطرق العمل

استخدم في هذه الدراسة نبات العرعر *Juniperus communis* من فصيلة Cupressineae. ونبات العرعر يسمى في ليبيا نبات الشعري او الشعرا وهو عبارة عن شجرة أوراقها إبرية دائمة الخضرة وثمرتها عنبية لبية تتكون من الحراشف اللحمية المتماسكة وهي من الأشجار الموجود بشكل طبيعي في مناطق الجبل الأخضر بليبيا وهي منتشرة في المناطق الباردة من آسيا وأوروبا وأمريكا الشمالية أما في ليبيا فتوجد بشكل كثيف في الجبل الأخضر ويستخدم السكان أوراقها في دبغ الجلود، كما تستخدم في تحسين طعم اللبن الرايب.

وتجمع شغالات حشرة النحل من أزهارها الرحيق لإنتاج عسل المن بالاضافه الى جمع مادة البروبوليس. والزيت الطيار الموجود بأوراقها يتكون من مواد تربينية Terpenes وسسكوتيربينية Sesquiterpenes، وعند تبريد الزيت تترسب مادة متبلورة تسمى كافور العرعر Juniperocamphor .

العسل المستخدم في الدراسة:

عسل المن وهو عسل انتج و تم جمعه من خلايا نحل وجدت اثناء فترة إزهار نبات العرعر.

المضاد الحيوي:

المضاد الحيوي المستخدم هو Tetracyclin. الشركة المصنعة Julphar ، نوع Capsules، تمت الإذابة في ماء مقطر معقم وعمل منه التركيز المناسب.

البكتيريا المستخدمة في الدراسة:

استخدمت في هذه الدراسة بكتيريا *Staphylococcus aureus* والتي تم الحصول عليها من قسم التحاليل الطبيه بمركز الثورة الطبي بالبيضاء، معزولة من حالات مرضية بالمركز.

الأوساط الغذائية المستخدمة في تنمية البكتيريا

وسط الأجار المغذي Nutrient Agar

مستخلص لحم (10 جم) ببتون (10 جم) كلوريد الصوديوم (5 جم) وماء (1000 مل) مضاف إليه 1.5% أجار، وتم تعقيمه فى المعقم (اوتوكليف) على درجة 121 مْ لمدة 15 دقيقة.

أستخلاص زيت العرعر:

تم استخلاص الزيت الطيار عن طريق التقطير المائي لأوراق نبات العرعر (Water Distillation)

مخلوط العسل مع الزيت الطيار:

تم تجهيزة بخلط العسل مع الزيت الطيار بنسبة 1 مل إلى 100 مل من عسل المن.

تقدير العدد الكلي للبكتيريا:

استخدمت طريقة العد بالأطباق (عبدالحافظ وآخرون معه، 1989) في حساب العدد الكلي للمستعمرات البكتيرية. حيث اختبرت التركيزات 10%، 15%، 20% من مخلوط العسل مع الزيت الطيار و ذلك باضافتها الى بيئة الأجار المغذى. و ذلك بوضع 1 مل من المعلق البكتيري، بعدها تم اضافه بيئة الاجار المغذى المعاملة بكل من تركيز 10 ، 15 ، 20% من مخلوط العسل مع الزيت الطيار للعرعر.

حيث تم عمل أربع أطباق لكل معاملة (تركيز) وأربع أطباق لمعامله العسل فقط بدون زيت طيار وأربعة بدون معاملة وأربع أطباق معاملة بالمضاد الحيوي التجاري و قد حضنت جميع الأطباق على درجة حرارة 37 مْ لمدة 48 ساعة بعدها تم عد المستعمرات البكتيرية النامية

فى اطباق كل معامله باستخدام جهاز عد المستعمرات Colong counter و منها تم حساب متوسط عدد المستعمرات في كل معامله.

حساسية البكتيريا للمعاملات المختلفة بواسطة أوراق الترشيح:

تم تحضير أقراص بقطر 5 ملم من أوراق الترشيح (Whatman No. 1) ثم وضعت في أطباق بتري زجاجية وعقمت بالفرن على 80 مْ لمدة 72 ساعة. بعدها استخدمت فى الاختبارات التى تم اجراؤها و ذلك بأخذ قرص واحد بواسطة الملقط المعقم وغمره في المحلول المحضر لكل من المعاملات المختلفة لمدة ساعة ليتشرب المعاملة. بعدها يترك لمدة 5 دقائق قرب اللهب للتخلص من المحلول الزائد ثم يوضع على سطح الأجار الملقح بالبكتيريا.

النتائج والمناقشة

جدول (1) تأثير التركيزات المختلفة لمخلوط العسل مع الزيت الطيار على أعداد مستعمرات بكتيريا *S. aureus* .

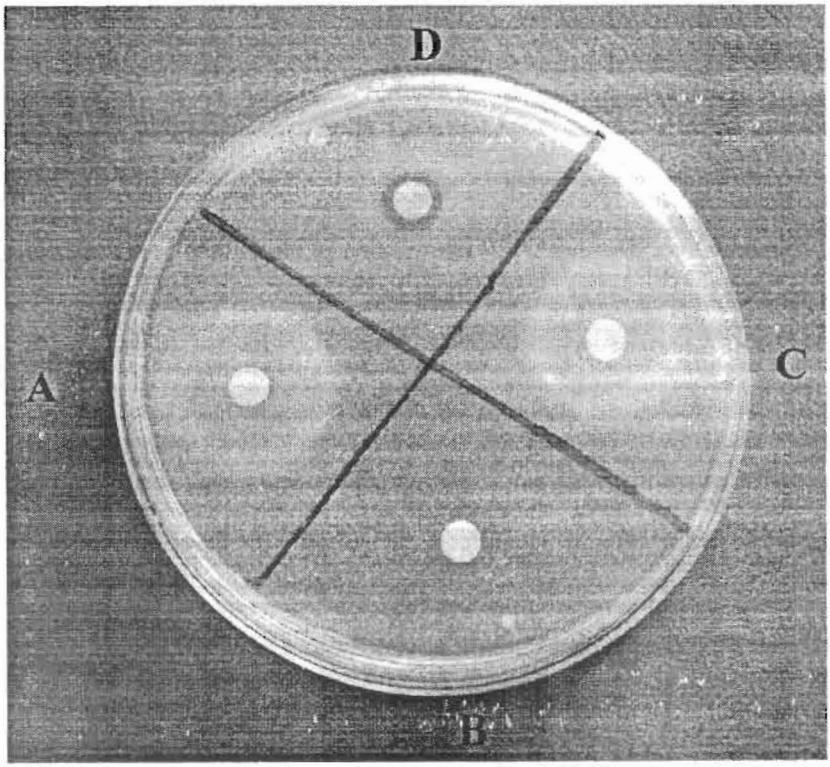
المعاملة	التركيز (%)	متوسط عدد المستعمرات البكتيرية في أربع أطباق
عسل وزيت طيار بنسبة 1% زيت	%0	120
	%10	70
	%15	60
	%20	20
عسل فقط	%0	119
	%10	90
	%15	60
	%20	45
المضاد الحيوي التجاري	%0	121
	%10	70
	%15	30
	%20	19

يتبين لنا من نتائج الجدول (1) بأن خلط العسل مع الزيت الطيار لنبات العرعر أدى إلى ارتفاع كفاءة العسل في تثبيط نمو البكتيريا وذلك من خلال خفض عدد المستعمرات النامية في الطبق حيث تبين لنا أن مخلوط العسل مع الزيت بنسبة 1- 100 مم عسل و تركيز 10% مع البيئة أعطى متوسط لعدد المستعمرات يساوي 70 مستعمرة بينما نفس التركيز للعسل بدون خلط مع الزيت أعطى 90 مستعمرة وهذا يبين التأثير الأقوى للعسل مع الزيت الطيارعند الاستخدام فى نفس التركيز (10%).

و بصفه عامه بينت أرقام الجدول أن زيادة تركيز العسل زادت من التاثير المضاد للنمو البكتيرى نتيجه ازدياد معدل موت الخلايا البكتيرية، وهذا واضح من خلال تدرج معدل الانخفاض فى عدد المستعمرات بزيادة التركيزللعسل المختبر، وذلك مقارنه بنتائج معاملات المقارنه (الشاهد) التى اوضحت ازدياد المستعمرات البكتيريه الناميه بها بأعداد كبيرة تراوحت فى المتوسط ما بين 119-121 مستعمرة في الطبق الغير معامل . مما يؤكد تاثر النمو البكتيرى لحد كبير من المعاملات المختلفة التى تم اجراؤها (جدول- 1).

جدول (2) تأثير الأقراص المشبعة بمخلوط العسل مع الزيت الطيار والعسل الطبيعي والمضاد الحيوي على قطر المنطقة الخالية من النمو البكتيرى ل *S. aureus* حول القرص.

المعاملة	التركيز (%)	قطر المنطقة الخالية من النمو البكتيرى
عسل وزيت طيار	%0	0
	%10	20
	%15	22
	%20	27
عسل فقط	%0	0
	%10	5
	%15	7
	%20	8
المضاد الحيوي التجاري	%0	0
	% 30 mg	26



صورة رقم (1)

A : العسل المخلوط بالزيت الطيار

B: الشـــــاهد (كونترول غير معامل)

C: العسل بدون أي معاملة

D: المضاد الحيوي

الجدول (2) يوضح قياسات قطر المنطقة الخالية من النمو البكتيرى حول قرص ورق الترشيح المشبع بتركيزات المعاملات المختلفة لمخلوط العسل مع الزيت الطيار او العسل فقط او المضاد الحيوى، حيث يتضح من النتائج الموضحه بالجدول ومن الصورة رقم (1)ازدياد قطر المنطقة الخالية من النمو البكتيري حول القرص كلما زاد التركيز، مقارنه بمعامله الشاهد التى لم يستخدم فيها اى من العسل أو المضاد الحيوي و التي تم فيها استخدام قرص مشبع بالماء المقطر المعقم حيث كان قطر المنطقة الخالية من النمو يساوي (0) أي لا توجد منطقة خالية من النمو حول القرص بينما عند تركيز 10% لمخلوط العسل مع الزيت الطيار (بنسبة 1 : 100 زيت إلى عسل على التوالي) كان قطر المنطقة الخالية من النمو تساوي 20 مم، وبازدياد مخلوط العسل مع الزيت الطيار في البيئة زاد قطر المنطقة الخالية من النمو و التى بلغت في تركيز 20% إلى 27 ملم. معبرا عن حدوث أكبر قطر للمنطقه الخاليه من النمو البكتيرى و الذى لم يسجل حتى مع المضاد الحيوي التجاري (26 ملم) فقط. بينما سجل العسل بدون زيت طيار قراءات تمثلت في 5 ، 7 ، 8 على التوالي مع زيادة التركيز المتدرج للعسل المختبر و التى كانت اقل منها فى حالته مخلوطة مع الزيت الطيار.

من خلال الصورة رقم (1) والجدول رقم (2) يتبين أن خلط العسل مع الزيت الطيار لنبات العرعر زاد من قدرته على تثبيط الميكروب من خلال قدرته على الإنتشار في البيئة حيث سجل قطر وصل إلى 27 مم (منطقه خاليه من النمو البكتيرى) وهذا يساوي أو أعلى مما سجل للمضاد الحيوي التجاري.

المراجع العربية

البمبي، محمد علي (2001) نحل العسل ومنتجاته، دار المعارف، القاهرة، ج.م.ع . رقم الإيداع 9867.

السخن، صائب نظمي (1982) مبادئ الإختبارات الكيميائية الحيوية في علوم الأحياء المجهرية والتشخيص (ترجمة) مديرية مطبعة جامعة الموصل – العراق رقم الإيداع 876.

عبدالحافظ، عبدالوهاب محمد ومحمد مبارك، محمد الصاوي (1989) الكائنات الدقيقة عملياً ترجمة الدرار العربية للنشر والتوزيع، القاهرة، ج.م.ع

محمود، سعد علي زكي (1988) الميكروبيولوجيا التطبيقية العملية، مطبعة الأنجلو المصرية، القاهرة، ج.م.ع ، رقم الإيداع 8272.

قطب، فوزي طه (1979) النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها، الدرار العربية للكتاب، ليبيا، تونس، 1979.

آل عبيدالله، صالح علي محمد (2001) تأثير النحل وبعض منتجاته على بعض أنواع البكتيريا الممرضة، رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة عمر المختار، الجماهيرية الليبية.

المراجع الأجنبية:

Mishref, A.; S.A. Magda and I.M. Ghazi (1989). The effect of feeding medicinal plant extracts to honey bee colonies on the antimicrobial activity of the honey product. Proceedings of the fourth international conference on apiculture in tropical climates, Cairo, Egypt, 6-10 November, 80-87.

Cortopassi, M. and D.S. Gelli (1991). Pollen analysis, Physico-chemical properties and antibacterial action of Brazilian honeys from Africanized honey bees (Apis mellifera) and stingless bees. Apidologie, 22, 61-73. In: CAB Abstructs, 1990-1991.

Feres, M.; Figueiredo.; I.Barreto; M.Coelho; M. Araujo And S. Cortelli, (2005) In vitro antimicrobial activity of plant

extracts and propolis in saliva samples of healthy and periodontally-involved subjects. J Int Acad Periodontol. Jul; (3): 90-6.

Teixeira, E.; G. Negri; R. meira; D. Message; and A. salatino (2005). Plant origin of Green propolis: Bee Behavior; plant Anatomy and chemistry. Evid Based complement Alternate med. Mar; 2 (1): 85-92. Epub 2005. Jan 6.

Increasing The Inhibitory Effeciency of El-Min Honey against *Staphyllococcus Aureus*, By Mixing With The Extracted Volatile Oil from El-Ar-Ar Plant-*Juniperum Communis*

Saleh Ali M. Al-Abid Alla
Faculty of Agriculture – Omar El-Mokhtar university

ABSTRACT

The results in the present manuscript declare the bactericidal effect of evaluated el-min honey, a Libyan honey type, that bee works collect its nectar from the flowers of the densely growing ***Juniperum communis*** (el-ar-ar) plants, in el-gabal el-akhdar region, Libya ,either alone or mixed with the extracted volatile oil from the green leaves of the same plant at a rate of 1 ml volatile to 100 ml of pure extracted honey from the capped hexagonal cells during the period of plant flowering. The bactericidal efficiency of both performed tests was compared to that of the commercial pharmaceutics antibiotic-tetracycline.

It is concluded that mixing the honey with the volatile oil revealed more increased inhibitory efficiency against the treated bacteria-***Staphyllococcus aurens*** , according to the estimated lower number of growing bacterial colonies in tested petri-dishs and/or the measured more enlarged diameter of the clear zone of bacterial growth around the used discs in the test.

The determined higher efficiency of mixed el-min honey with the volatile oil could be attributed to its increased spreading in the substrate by means of the volatile oil.

Consequently , this valuable result could be applied as beneficial mean in raising the bactericidal effect of el-min honey in healing wounds

and the resulting injuries of burns, due to its increased spreading in the wounded tissues and inflated burns. Sequently, that greatly inhibit the growth of microbes having great drastic toxic effects and preventing the rapid healing of wounds, in addition to the good effects of the unsaturated fats of the volatile oils, which play a great role in absorbing the toxic materials and possibly existing heavy elements that delay and prolong the needed interval for healing of wounds or burns.