مجلهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۸ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۵ صفحات ۱۱۹- ۱۱۳

بررسی فعالیت ضد باکتریایی عسل‌های بعضی از مناطق ایران در شرایط in vitro

دکتر اکبر میر صالحیان: دانشیار، گروه میکربشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران: نویسنده رابط
E-mail: mirsaleh@ sina.tums.ac.ir
دکتر غلامحسین طهماسبی: دانشیار، موسسه تحقیقات علوم دامی کرج
سید محمد میر افشار: مربی، گروه میکربشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر مهدی رزاقی: پزشک، گروه میکربشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
دکتر امیر ابریشمی: پزشک، گروه میکربشناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

دریافت: ۸۴/۶/۱۲، پذیرش: ۸۴/۱۱/۱۹

چکیده

زمینه و اهداف: با توجه به سابقه تاریخی عسل در پوشاندن زخمها و نقش ضد باکتریایی که اخیرا برای این ماده طبیعی قائل شده اند ، مطالعه‌ای به منظور ارزیابی فعالیت ضد باکتریایی عسل‌های مناطق مختلف ایران، روی ۷۸ نمونه عسل که با همکاری مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور از نواحی مختلف کشور (۱۵ استان، ۳۸ منطقه) تهیه شد، انجام گرفت.

روش بررسی: اکثریت نمونه‌های عسل منشأ چند گلی داشته و انواع گون، آویشن **و** انواع خار به ترتیب فراوان‌ترین منبع گلی نمونه‌های مذکور را شامل می شد ند. از عسل‌های تک گلی جمع‌آوری شده می توان نمونه‌های مرکبات، گز، باریجه، یونجه، کنار، اکالیپتوس و آفتابگردان را نام برد. عسل‌ها در مقابل استافیلو ککوس اورئوس با روش انتشار در آگار از چاهک و با در نظر گرفتن فنل به عنوان استاندارد مورد آزمایش قرار گرفتند، میانگین فعالیت کل و غیر پراکسیدی نمونه‌های عسل به ترتیب ۲/۲۸ و ۰/۹۷ درصد فنلی با انحراف معیار ۱/۱۸ و ۰/۳۸ درصد فنلی محاسبه شد.

یافته‌ها: یکی از عسل‌های خراسان، عسل بابل، بیجار، تکاب ۶ ، قروه ۱۰، تکاب ۴ و تکاب ۲ به ترتیب با فعالیت ۵/۷۳، ۴/۷۳، ۴/۷۲، ۴/۷۳، ۴/۶۱ ، ۴/۳۸ و ۴/۳۲ درصد فنلی از بالاترین فعالیت ضد باکتریایی برخوردار بودند.

از نظر فعالیت غیر پراکسیدی عسل‌های تکاب ۶، تکاب ۴، تکاب ۲، دیواند ره و ارومیه با فعالیت ۲/۷۵، ۲/۱۷، ۲/۰۴و۲/۰۴و ۱/۷۹ درصد فنلی به ترتیب از بالاترین فعالیت برخوردار بود ند. در بین عسل‌های تک گلی، نمونه‌های مرکبات، گز، اکالیپتوس و آفتابگردان از فعالیت قابل توجهی برخوردار نبودند و نمونه‌های باریجه، یونجه و کنار فعالیت متوسط داشتند.

نتیجه گیری: نتایج این تحقیق حاکی از این است که تمام عسلها(حتی عسلهای طبیعی بامنبع گلی مشخص) از فعالیت ضد باکتریایی قابل توجهی برخوردار نیستند و بنابراین اگر چنانچه استفاده از عسل به عنوان ماده ضد باکتریایی روی زخمها یا موارد دیگر مد نظر باشد ابتدا بایستی میزان فعالیت ضد باکتریایی آن مورد سنجش قرار گیرد.ضمنا پس از آنکه نمونه‌های عسل از نظر رنگ از تیره به روشن تقسیم‌بندی و شماره‌گذاری شدند، آنالیز با روش همبستگی پیرسون نشان داد که در عسل‌های تیره‌تر فعالیت ضد باکتریایی غیر پراکسیدی بالاتر و فعالیت پراکسیدی پایین‌تر است. همچنین این آنالیز نشان داد که با زیاد شدن سن نمونه‌ها (بر اساس مدت زمان ذخیره‌سازی قبل از آزمایش) رنگ عسل تیره‌تر می‌شود.

کلید واژه ها: عسل، فعالیت ضد باکتریایی، استا فیلوککوس اورئوس

مقدمه

قدرت عسل در پاکسازی و تسریع ترمیم زخم‌ها از دوران باستان شناخته شده بوده و در اسناد مختلف تاریخی کاربرد آن به عنوان ماده پوشاننده جراحت ذکر گردیده است(۱). قدرت عسل در تسریع ترمیم زخم‌ها در قرن اخیر نیز مورد توجه محققان بوده و مطالعات وسیع بر روی حیوانات و انسان به خوبی این موضوع را اثبات نموده است(۵-۲).

در اواخر قرن نوزدهم خاصیت ضد میکروبی عسل شناخته شد و از آن زمان تاکنون اطلاعات فراوانی در این زمینه به دست آمده است. خاصیت ضد میکروبی عسل‌های به دست آمده از منابع گلی مختلف، بسیار متفاوت بوده و می‌تواند سرعت برطرف کردن عفونت از زخم‌ها و در نتیجه سرعت ترمیم آنها را تحت تأثیر قرار دهد(۱۰-۶).

غیر از استفاده موضعی در جراحات، در قرن اخیر کاربرد عسل در حوزه‌های بالینی دیگری نیز مورد مطالعه قرار گرفته است و در اکثریت موارد این معجون شفابخش با موفقیت از بوته آزمایش بیرون آمده است. از آن جمله می‌توان به کاربرد موفقیت‌آمیز عسل در درمان اسهال عفونی، سوء هاضمه و زخم معده، زخم‌های عفونی و غیر عفونی قرنیه و ملتحمه و ... اشاره نمود (۳و۱۱). در اغلب این موارد خاصیت ضد میکروبی عسل از جایگاه ویژه ای برخوردار بوده است.

در مورد فعالیت ضد باکتریایی عسل‌های مناطق مختلف ایران، مطالعه‌ای در سال ۱۳۷۲ روی ۲۰ نمونه عسل از مناطق مختلف انجام شد و فعالیت بالایی در نمونه‌های زنجان، دماوند، کرج، تبریز و مشهد گزارش شد (۱۲). اما با توجه به گستردگی مناطق آب و هوایی کشور و تنوع پوشش گیاهی هر منطقه، بررسی بیشتر جهت یافتن مناطق یا منابع گلی که عسلی با فعالیت بالا از آن به دست می آید، لازم به نظر رسید.

مواد و روش ها

هفتادوهشت نمونه عسل از نواحی مختلف که منبع تولید آنها شهد گل بوده(فقط در یکی از نمونه‌های عسل (عسل خوی) تغذیه دستی زنبوران با شکر توسط زنبورداران اذعان شده است) و در زمان ذخیره‌سازی در معرض حرارت و نور مستقیم آفتاب قرار نگرفته بودند، مورد مطالعه قرار گرفت، این نمونه‌ها با همکاری مؤسسه تحقیقات علوم دامی کشور طی سال‌های ۷۹ تا ۸۱ از ۱۵ استان و ۳۸ شهرستان یا بخش کشور تهیه شد. منبع گلی نمونه‌های عسل با توجه به منطقه و فصل تولید و بیشتر با تکیه بر اطلاعات زنبورداران تعیین شد. ۱۰ نمونه از عسل‌ها شامل عسل گز، باریجه، یونجه، کنار، آفتابگردان. دو نمونه عسل اکالیپتوس و سه نمونه عسل مرکبات به عنوان نمونه‌های تک گلی شناخته شدند. از سایر منبع گلی می توان انواع گون، آویشن، انواع خار، اسپرس، مریم نخودی، شبدر، کنکبود، استاقدوس، گرز، کلاه میر حسن، کاکوتی، خرمالوی وحشی، مرزنجوش و ... را نام برد. در این بین سه مورد اول به ترتیب فراوان‌ترین منبع گلی نمونه را تشکیل می‌دادند.

مدت زمان ذخیره‌سازی نمونه‌های عسل قبل از انجام آزمایش از ۱ تا ۳۶ ماه متغیر بود. عسل‌ها در ظروف در بسته در دمای اتاق ذخیره شده و گهگاه نور پراکنده روز بر آنها تابیده می‌شد. بررسی فعالیت ضد باکتریایی نمونه‌های عسل به صورت ذیل انجام پذیرفت.

الف- آماده سازی محلول‌های عسل:

برای تهیه محلول‌های اولیه به ۵ گرم از نمونه عسل 5ml آب مقطر استریل افزوده شد و به کمک همزن شیشه‌ای بهم زده شد تا به صورت محلول همگن درآید. محلول‌های بعدی با برداشتن 1ml از هر کدام از محلول‌های فوق و افزودن 1ml آب مقطر یا محلول کاتالاز به آن تهیه شد(محلول عسل در آب مقطر برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی کل و محلول عسل در محلول کاتالاز برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی غیر پراکسیدی به کار می رود. زیرا آنزیم کاتالاز منجر به تجزیه پراکسیدی هیدروژن می گردد). غلظت این محلول‌ها با در نظر گرفتن دانسیته ۱/۴ g/ml برای عسل ۲۱ درصد وزن به حجم می‌باشد. محلول کاتالاز از حل کردن ۵۰ mg کاتالاز(Sigma C-4 0 14400 units/ mg) در ۲۵ ml آب مقطر تهیه شد. محلول‌های ۲۱ درصد عسل بلافاصله پس از تهیه مورد آزمایش قرار گرفتند .

ب- استانداردهای فنلی

محلول‌های ۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ در صد وزن در آب مقطر برای استفاده به عنوان استاندارد تهیه شد(۱۴).

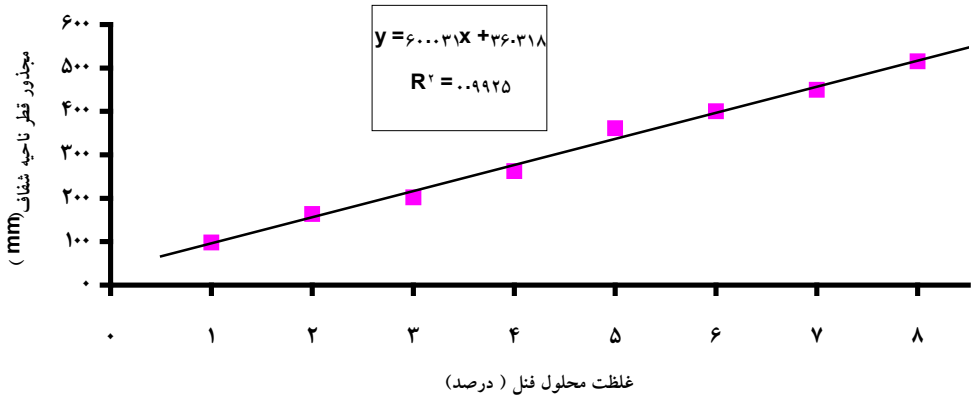
ج- اندازه گیری فعالیت ضد باکتریایی

فعالیت ضد باکتریای نمونه های عسل با روش انتشار از چاهک[1]، مورد ارزیابی قرار گرفت(۱۴). آگار مغذی مذاب (merck, 20 g/lit) که در حجم‌های ۵ و ۱۱ میلی لیتری در لوله‌های درب دار استریل شده بود، با قرار دادن در حمام آب گرم تا دمای حدود ۵۰- ۴۵ درجه سانتیگراد سرد شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از کشت ۱۸ ساعته استافیلو ککوس اورئوس طلایی (ATCC 25923) درآبگوشت (Tripticase Soy Broth , g/lit) که تاحد ۰/۵ مک فارلند رقیق شده بود را به آگار افزوده و آنگاه مخلوط بلافاصله در پلیت 78_{mm} ریخته شد.

در مرکز هر پلیت با استفاده از چوب پنبه سوراخ کن که روی شعله استریل وسپس خنک شده بود یک چاهک به قطر ۸/۸ mm ایجاد شد. برای هر نمونه عسل ۵ پلیت در نظر گرفته شد که سه پلیت برای آزمایش محلول ۲۱ درصد عسل در آب مقطر (فعالیت کل) و ۲ پلیت برای آزمایش محلول عسل در کاتالاز (فعالیت غیر پراکسیدی) به‌کار رفت (با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول عسل در آب مقطر یا کاتالاز به درون چاهک). برای هر یک از استانداردهای فنلی ۱تا ۸ در صد و نیز برای آب مقطر و محلول کاتالاز خالص یک پلیت به عنوان کنترل در نظر گرفته شد.

پلیت ها به مدت ۱۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد گذاشته شد. سپس قطر نواحی عدم رشد با استفاده از خط کش میلیمتری در دو راستای عمود بر هم اندازه‌گیری و میانگین قطر ناحیه عدم رشد سه پلیت مربوط به محلول عسل در آب و دو پلیت محلول عسل در کاتالاز محاسبه شد. قطر ناحیه عدم رشد اطراف هر استاندارد فنلی اندازه‌گیری و مجذور آن محاسبه شد. در نمودار مجذور قطر نواحی شفاف در مقابل غلظت فنل بر حسب درصد، نقاط مشخص و بهترین خط ترسیم گردید (نمودار ۱) . معادله این خط به منظور محاسبه درصد فنلی کل و غیر پراکسیدی هر محلول عسل از روی مجذور قطر نواحی شفاف به عنوان معیاری از فعالیت ضد باکتریایی به کار رفت. در مورد نمونه‌هایی که هاله شفافی اطراف چاهک عسل تشکیل نشده بود، قطر خود چاهک (۸/۸ mm) مجذور گشت و با قرار دادن آن در معادله عدد ۰/۶۹ درصد فنلی به دست آمد و این عدد برای انجام محاسبات و آنالیزهای آماری به کار رفت. با کم کردن درصد فنلی غیر پراکسیدی از کل در مورد هر محلول عسل، درصد فنلی پراکسیدی محاسبه گشت.

1. Agar well diffusion assay



غلظت محلول فنل (درصد)	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸
قطر ناحیهٔ شفاف(mm)	۹/۹	۸/۱۲	۱۴/۲	۱۶/۲	۱۹	۲۰	۲۱/۲	۲۲/۷

نمودار ۴-۱: نمودار ارتباط بین مجذور قطر ناحیه شفاف با غلظت محلول فنل

بررسی ارتباط فعالیت ضد باکتریایی با سن و رنگ نمونه های عسل نیز بصورت ذیل انجام پذیرفت که:

مدت زمان ذخیره سازی نمونه‌های عسل قبل از انجام آزمایش بر حسب ماه، به عنوان سن نمونه‌های عسل در نظر گرفته شد. با رسم نمودار فعالیت ضد باکتریایی کل و غیر پراکسیدی در مقابل سن، ارتباط آنها بررسی شد. نمونه‌های عسل در لوله‌های آزمایش ۱۰ میلی‌لیتری شفاف و یکدست ریخته شد. قبل از آن، سیالیت نمونه‌های جامد با قرار دادن در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد تا حدودی افزایش یافت. نمونه‌هایی که به علت تشکیل بلورهای جامد کدر شده بود، با حرارت غیر مستقیم (با استفاده از حمام آب گرم) به حالت شفاف در آمد. سپس با در نظر گرفتن حداقل تفاوت رنگ قابل مشاهده با چشم به عنوان معیار، نمونه‌های عسل از پر رنگ به کم رنگ دسته‌بندی و شماره‌گذاری شد. نمودار فعالیت ضد باکتریایی (غیر پراکسیدی و پراکسیدی) هر نمونه عسل در مقابل شماره رنگ آن برای بررسی ارتباط فعالیت ضد باکتریایی با رنگ نمونه‌های عسل به کار رفت.

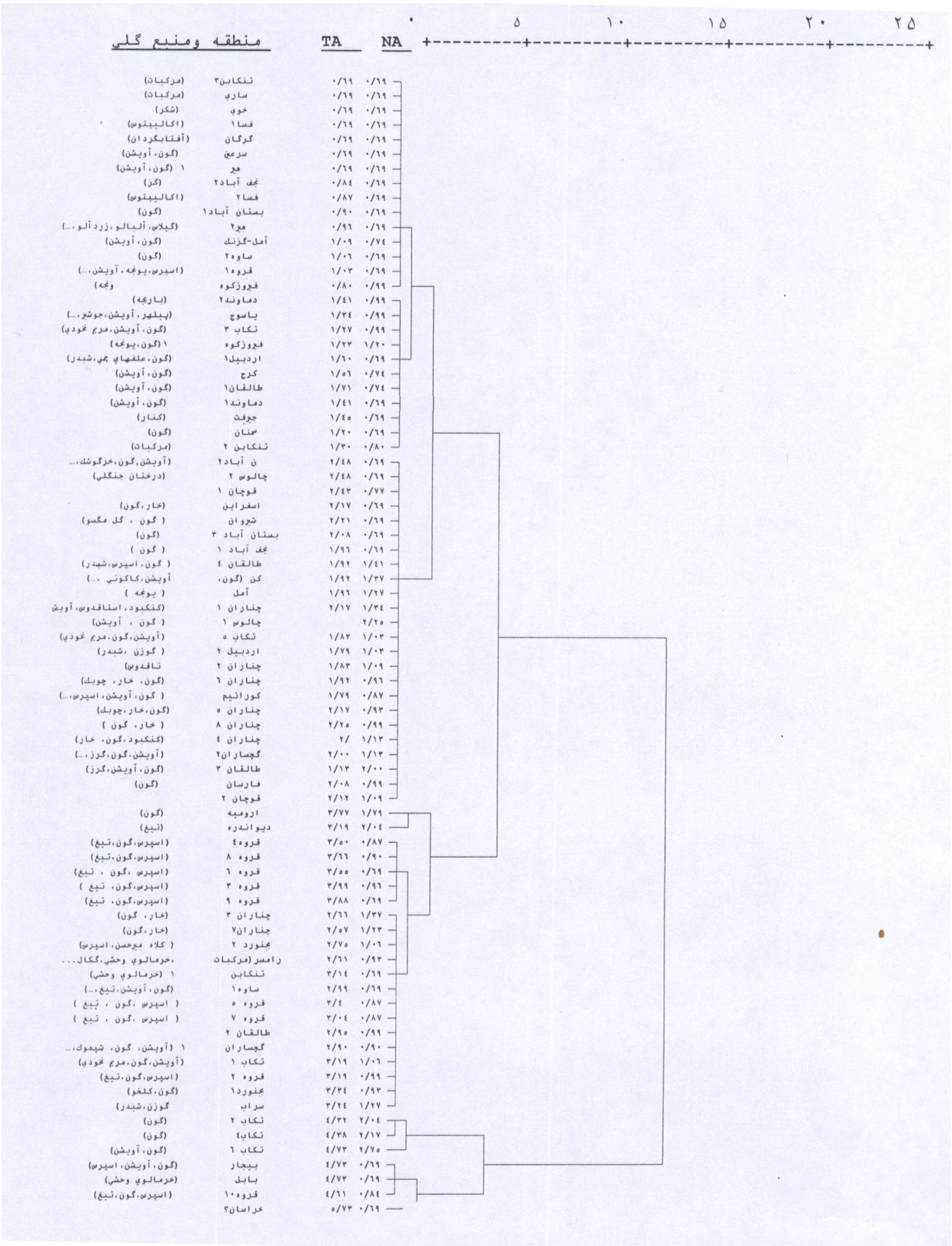
یا فته ها

نتایج بررسی فعالیت ضد باکتریایی در نمودار ۲ قابل مشاهده است. فعالیت کل در محدوده غیر قابل مشاهده با روش آزمایش ـ که اجباراً عدد ۰/۶۹ درصد فنلی برای آن منظور گشت ـ تا ۵/۷۳ درصد فنلی قرار داشت. فعالیت غیر پراکسیدی از ۰/۶۹ (غیر قابل مشاهده) تا ۲/۷۵ درصد فنلی متغیر بود (با میانگین ۰/۹۷ و انحراف معیار ۰/۳۸ درصد فنلی). در اطراف چاهک‌های مربوط به آب مقطر و محلول کاتالاز خالص هاله شفافی تشکیل نشد.

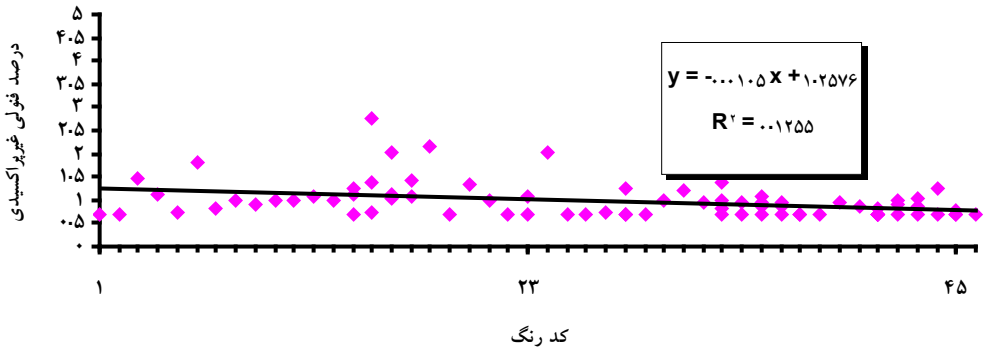
برای گروه‌بندی نمونه‌های عسل از آنالیز کلاستر با استفاده از مربع فواصل اقلیدسی استفاده شد. این گروه‌بندی بر اساس فعالیت ضد باکتریایی کل و غیر پراکسیدی صورت گرفت (نمودار۲). به این ترتیب نمونه‌های عسل به ۱۰ گروه تقسیم شدند. با بررسی مقادیر فعالیت کل و غیر پراکسیدی در مورد نمونه‌های عسل ملاحظه می شود که فعالیت غیر پراکسیدی اکثریت نمونه‌های عسل در محدوده ۰،۶۹ تا ۱،۴۸ درصد فنلی قرار دارد و فقط ۵ نمونه از عسل‌ها شامل عسل ارومیه، دیواندره، تکاب ۲، تکاب ۴ و تکاب ۶ فعالیت غیر پراکسیدی بالاتر از محدوده نامبرده دارند. در نمودار ۲، دو نمونه اول یک گروه و سه نمونه بعد نیز یک گروه جداگانه را تشکیل می‌دهند. بنا بر این قسمت اعظم گروه‌بندی نمونه‌های عسل بر اساس فعالیت کل صورت گرفته است که در محدوده وسیع‌تری پراکنده شده است. از آنجا که اکثریت نمونه‌های عسل ایران حاصل شهدگیری زنبوران از گیاهان متعدد است و انواع گیاهان و سهم هر گیاه در تولید عسل کاملاً معلوم نیست، بررسی ارتباط فعالیت با منبع گلی امری است دشوار. اکثریت عسل‌های تک گلی در گروه اول (گروه دارای کمترین فعالیت) قرار گرفته اند و فقط سه نمونه از آنها شامل عسل باریجه، یونجه و کنار در گروه دوم جای دارند.

نمودار۲: گروه‌بندي عسل‌ها با توجه به فعالیت کل (TA) و غیرپراکسیدی (NA) با آنالیز کلاستر بر اساس مربع فاصله اقلیدسی

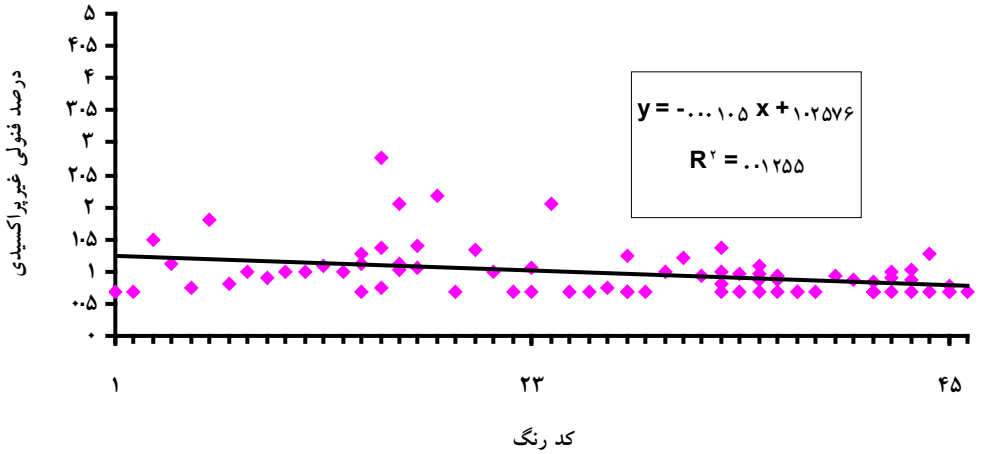
Dendrogram using Average Linkage (Between Groups) Rescaled Distance Cluster Combine



همبستگی بین خصوصیات عسل با روش همبستگی پیرسون بدست آمد که بین فعالیت ضد باکتریایی کل و غیر پراکسیدی با سن، همبستگی معکوس ضعیفی مشاهده شد ضمناً عسل‌ها بر اساس رنگ به ۴۶ گروه تقسیم بندی و شماره گذاری شدند. به این ترتیب که عدد ۱ برای تیره ترین و عدد ۴۶ برای روشن ترین گروه منظور گشت. نمودارهای۳ و۴ به ترتیب پراکنش فعالیت غیر پراکسیدی و پراکسیدی عسل‌ها را در مقابل رنگ نشان می‌دهد. این نمودارها حاکی است با تیره شدن عسل فعالیت غیر پراکسیدی افزایش ($P = ۰/۰۰۱$ ، $r = ۰/۳۵۴$) و فعالیت پراکسیدی کاهش می‌یابد ($P = ۰/۰۱۳$ ، $r = ۰/۲۷۹$). همچنین با گذشت زمان رنگ عسل تیره تر می شود ($P = ۰/۰۰۲$ ، $r = - ۰/۳۵۴$).



نمودار۳: پراکنش فعالیت ضدباکتریایی غیر پراکسیدی برحسب رنگ



نمودار۴: پراکنش فعالیت ضدباکتریایی پراکسیدی بر حسب رنگ

بحث

علل فعالیت ضد باکتریایی عسل عبارتند از: ۱ـ اسمولالیته: عسل یک محلول اشباع یا فوق اشباع از قندها است که معمولاً فقط بین ۱۵ تا ۲۱ درصد وزنی آن را آب تشکیل می‌دهد. ۲ـ اسیدیته: pH عسل بین مقادیر ۳/۲ تا ۴/۵ متغیر است که برای بسیاری از پاتوژنهای حیوانی بازدارنده است. ۳ـ پراکسید هیدروژن: آنزیمی به نام گلوکز اکسیداز غدد تحت حلقی زنبور وارد شهد می‌شود که با اثر بر گلوکز منجر

به تولید گلوکورونیک اسید و پراکسید هیدروژن می گردد. ۴ـ سایر فاکتورها از قبیل فلاوونوئیدها، فنلیک اسیدها (۶)، لیزوزیم، اجزای ضد باکتری فرار و ... (۸).

با توجه به اینکه محلول‌های رقیق عسل برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی به کار می‌روند، تفاوت در میزان آب و اسیدیته عسل‌های مختلف چندان در اختلاف فعالیت آنها مؤثر نیست. به ویژه اینکه در روش انتشار در آگار، محلول عسل در اثر انتشار به میزان بیشتری رقیق می‌گردد و مواد به کار رفته در محیط کشت نیز به عنوان تامپون عمل نموده عامل اسیدیته را کم اهمیت‌تر می‌سازد. مؤید مطلب فوق این است که با روش فوق، در بعضی عسل‌ها علی رغم برخورداری از اسمولالیته بالا و اسیدیته، فعالیتی مشاهده نمی‌گردد.

با توجه به اینکه تفاوتهای عمده مشاهده شده در فعالیت عسل‌ها مربوط به اختلاف سطح پراکسید هیدروژن و فاکتورهای غیر پراکسیدی است. محتوای فاکتورهای غیر پراکسیدی به‌طور واضح به منبع گلی وابسته است و گاهی همین فاکتورها ـ همانطور که در عسل‌های تکاب، دیواندره، ارومیه و کن دیده شد ـ بخش مهمی از فعالیت کل را تشکیل می‌دهند. سطح پراکسید هیدروژن موجود در عسل نیز می تواند به منبع گلی وابسته باشد. اجزای بعضی گلها می تواند منجر به تخریب پراکسید هیدروژن گردد. Schepartz نشان داد که در عسل آنزیم کاتالاز وجود دارد که از گرده و به ویژه شهد گیاهان خاصی منشأ می‌گیرد. عسل‌های با منشأ بعضی گلها سطح کاتالاز بسیار بالایی دارند و در آنها میزان پراکسید هیدروژن پایینی تجمع می یابد (۷).

غیر از تخریب آنزیمی پراکسید هیدروژن، در بعضی عسل‌ها مقدار قابل توجهی اسید آسکوربیک (تا ۲۲ mmol/lit) وجود دارد که در حضور یونهای فلزی منجر به تجزیه پراکسید هیدروژن می گردد (۸). در مطالعه فعلی در دو نمونه از عسل‌های مرکبات فعالیت ضد باکتریایی مشاهده نشد و در یک نمونه نیز میزان فعالیت اندک بود. یک فرضیه این است که در این عسل‌ها سطح اسید آسکوربیک بالا باشد.

منبع گلی علاوه بر تخریب، تولید پراکسید هیدروژن را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد. تفاوتهای عمده‌ای در عسل‌های با منابع گلی متفاوت در پایداری گرمایی محتوای گلوکز اکسیداز آنها مشاهده شده است (۷).

اهمیت احتمالی فاکتورهای غیر پراکسیدی در شرایط کلینیکی توسط Willix مورد بررسی قرار گرفت (۱۳). او حساسیت گونه های شایع باکتری‌های پدید آورنده زخم را نسبت به عسل با فعالیت بالا که به طور عمده از پراکسید هیدروژن ناشی می شد و نسبت به عمل Manuka که فعالیت آن به طور عمده مربوط به فاکتورهای غیر پراکسیدی است مورد مقایسه قرار داد. هر دوی عسل‌ها در مقابل تمام هفت گونه مورد آزمایش بسیار فعال بودند، ولی ترتیب حساسیت گونه های مورد آزمایش نسبت به دو نوع عسل کاملاً متفاوت بود.

در مطالعه انجام شده بین فعالیت ضد باکتریایی کل و غیر پراکسیدی با سن نمونه های عسل همبستگی معکوس ضعیفی مشاهده شد. با توجه به اینکه عسل‌ها در اتاقی با دمای معمولی ذخیره شده بودند و گهگاه تحت تابش نور غیر مستقیم بوده اند، دناتوره شدن تدریجی آنزیم گلوکز اکسیداز، اکسایش نوری آن و تخریب یا از دست رفتن اجزای ضد باکتریایی غیر پراکسیدی در شرایط مذکور، می تواند این یافته را توجیه کند. یادآور می‌شود در مطالعه انجام شده روی عسل‌های نیوزیلند (۱۴) که عدم ارتباط فعالیت ضد باکتریایی با سن گزارش شده است، عسل‌ها در دمای ۱۰ درجه سانتیگراد و در تاریکی ذخیره شده بودند.

در یک نتیجه گیری کلی این مطالعه (آنالیز پیرسون) نشان داد که در عسل‌های تیره تر فعالیت ضد باکتریایی غیر پراکسیدی بالاتر و فعالیت پراکسیدی پایین تر است. با توجه به اینکه فلاوونوئیدها هم از پیگمان های مؤثر در رنگ عسل (۱۶و ۱۵) و هم از اجزای فعال ضد باکتریایی می‌باشند، یافته اول دور از ذهن نیست. همین آنالیز نشان داد که با گذشت زمان رنگ عسل تیره‌تر می‌شود. احتمال دارد پلی فنلهایی که Browne (۱۷) در ۲۵ نمونه از ۹۲ عسل مورد آزمایش شناسایی کرد، تحت تأثیر اکسیژن هوا به مواد تیره رنگی اکسید می‌شوند.

تقدیر و تشکر

لازم است از کارشناسان و تکنسین های بخش میکربشناسی دانشکده پزشکی و بخش زنبور عسل موسسه تحقیقات علوم دامی کشور که ما را در این تحقیق مساعدت نمودند قدردانی نمائیم.

References

1. Zumla A, Lutat A Honey – a remedy rediscovered. *Journal of the Royal Society of Medicine* 1998; **82**: 384-5.
2. Efem SEE. Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of surgery* 1998; **75** : 879-81.
3. Molan, PC. Why honey is effective as a medicine. 1. Its use in modern medicine. *Bee world* 1999; **80**(2): 80-92.
4. Natarajan S, Williamson D, Grey J, Harding KG, Cooper RA. Healing of an MRSA-colonized, hydroxyurea-induced leg ulcer with honey. J. *Dermatolog Treat*. 2001; **12**(1): 33-6.
5. Oryan A, Zaker SR. Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits. *Journal of veterinary and Medicine A* 1998; **45**: 181-8.
6. Wahdan H A L. Causes of the antibacterial activity of honey. *Infection* 1998; **26**(1): 26-31.
7. Molan PC. the antibacterial activity of honey. 2. variation in the potency of the antibacterial activity Bee world 1992; **73**(2): 59-76.
8. Molan , PC: The antibacterial activity of honey . 1. The Nature of the antibacterial activity. *Bee world* 1992 ; **73**(1): 5-28.
9. Al Jabri AA, Nzeako B, Al Mahrooqi Z, Al Naqdy A, Ncanze H. In virto antibacterial activity of Omani and African Honey. *British Journal of Biomedical Sciense* 2003; **60**(1): 1-4.
10. Wilkinson JM, Cavanagh HM:Antibacterial activity of 13 honeys against Escherichia coli and pseudomonas aeruginos. *J med food* 2005 ; spring; **8**(1): 100-3.
11. Lusby PE, Coombes A, Wilkinson JM: Honey : a potent agent for wound healing ? J. Wound Ostomy Continence Nurs. 2002; **29** (6): 273-4.
12. Shahin M, Rajabi M, Peroxide and non – Peroxide antibacterial activity in some Iranian honeys. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran* 1993: **7**(3) : 93-7.
13. Willix DJ, Molan PC, Harfoot CG. A comparison of the sensitivity of wound-infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey. *Journal of Applied bacteriology* 1992; **73**: 388-94.
14. Allen KL, Molan PC, Reid, GM: A Survey of the antibacterial activity of some New Zealand Honeys. *Journal of pharmacy and pharmacology* 1991; **43** (12) : 817-22.
15. Forreres F, Tomas – Barberan F A, Soler C, Garcia – Viguera, et al. A simple extractive technique for honey flavonoid HPLC analysis. *Apidologie* 1994; **25** (1): 21-30.
16. Solar C, Gil MI, Garcia – Viguera C, Tomas – Barberan FA. Flavonoid patterns of French honeys with different floral origin. *Apidologie* 1995; **26**(1): 53-60.
17. White JW. Jr. Honey. In: The Hive and the honey Bee, JM Grabam, Hamilton, Illinois, Dadant and Sons, 1992; PP: 869-925.