

JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE, BIOLOGY AND BIOECONOMY

wcześniej – formerly

Annales UMCS sectio EE Zootechnica

VOL. XXXVI (4)

2018

CC BY–NC–ND

DOI: 10.24326/jasbbx.2018.4.2

¹Katedra Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

²Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej,
Uniwersytet Medyczny w Lublinie, ul. Chodźki 1, 20-093 Lublin
e-mail: bozena.nowakowicz@up.lublin.pl

MATEUSZ OSSOWSKI¹, BOŻENA NOWAKOWICZ-DĘBEK¹,
ŁUKASZ WLAZŁO¹, MARTYNA KASELA²

Przeciwbakteryjne i przeciwgrzybicze właściwości miodu – badania wstępne

Antibacterial and antifungal properties of honey – preliminary studies

Streszczenie. Narastająca antybiotykooporność drobnoustrojów zmusza do poszukiwania naturalnych źródeł związków wykazujących działanie przeciwdrobnoustrojowe. Miody charakteryzują się wysokim potencjałem antyoksydacyjnym i zróżnicowanym składem chemicznym zależnym od pochodzenia (strefy klimatycznej) i gatunków roślin wykorzystanych przez pszczoły do ich wytworzenia. W niniejszych badaniach podjęto próbę wstępnej oceny przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych właściwości miodów pochodzących z Lubelszczyzny, jak i tych dostępnych lokalnie na rynku komercyjnym. Analizowano oddziaływanie miodów na najważniejsze drobnoustroje patogenne: paciorkowce, gronkowce koagulazododatnie (*Staphylococcus aureus*) i koagulazoujemne oraz na drożdżaka *Candida albicans*. Badane miody wykazywały wysoki potencjał antybakteryjny wobec paciorkowców oraz umiarkowany wobec gronkowców koagulazoujemnych. Nie zaobserwowano działania przeciwdrobnoustrojowego miodów zarówno wobec *S. aureus*, jak i *C. albicans*.

Słowa kluczowe: właściwości przeciwbakteryjne, właściwości przeciwgrzybicze, aktywność przeciwdrobnoustrojowa, miód

WSTĘP

Właściwości prozdrowotne i lecznicze miódów znane są już od starożytności. Jednym z ich pierwszych zastosowań było wspomaganie leczenia ran, które wówczas możliwe było dzięki utrzymywaniu odpowiedniej wilgotności gojącej się skóry. Znacząca część badań skupia się na miodach występujących tylko lokalnie, w różnych rejonach świata [Ahmed i in. 2014]. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa miódów zależna jest od różnych czynników działających zarówno pojedynczo, jak i synergicznie. Do najważniejszych należy zawartość nadtlenu wodoru, związków fenolowych, pH miodu i ciśnienie osmotyczne, jakie wywiera dany miód [Mandal i Mandal 2011, Osés i in. 2016]. Ponadto związkami wpływającymi dodatnio na aktywność przeciwdrobnoustrojową są składniki fitochemiczne, tj. flawonoidy, metyloglioksal, leptozyna, melanoidyny czy rodniki hydroksylowe [Kato i in. 2012, Oelschlaegel i in. 2012]. Większość miódów cechuje się wysokim stężeniem nadtlenu wodoru, podczas gdy inne – takie jak miód manuka – wysoką osmolarnością związaną z dużym stężeniem cukrów [Lusby i in. 2005, Vallianou i in. 2014]. Ponadto potwierdzono, że miód manuka i miody lecznicze (występujące tylko regionalnie), wykorzystane do hamowania reakcji zapalnych, powodowały szybsze gojenie się skóry w przypadku ran, owrzodzeń czy oparzeń [Vallianou i in. 2014, Zaghoul i in. 2001]. Mundo i in. [2004] podają, że niektóre rodzaje miódów są zdolne do hamowania wzrostu patogenów przenoszonych za pośrednictwem żywności, jak i drobnoustrojów powodujących jej rozkład, zatem w odpowiednich warunkach mogą być stosowane jako naturalny konserwant. Jakkolwiek Molan i Cooper [2000] stwierdzili, że różnica siły działania przeciwdrobnoustrojowego różnych miódów może być ponad 100-krotna, w zależności od pochodzenia geograficznego, źródła, metody zbioru oraz warunków przechowywania.

Właściwości miódów będące efektem ich składu chemicznego zależą w dużej mierze od tego, z jakich gatunków roślin pochodzą. Związki chemiczne zawarte w miodach mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu zakażeń o etiologii bakteryjnej lub grzybiczej, wywołanych nawet przez antybiotykooporne szczepy drobnoustrojów, czy w leczeniu choroby wrzodowej żołądka wywołanej przez *Helicobacter pylori* [Mandal i Mandal 2011]. Potwierdzono ponadto, że miody mogą znaleźć zastosowanie w leczeniu nowotworów, astmy, schorzeń układu krążenia, chorób neurologicznych i przewodu pokarmowego, a nawet cukrzycy [Samarghandian i in. 2017].

Zjawisko narastającej lekooporności drobnoustrojów zmusza do poszukiwania nowych związków wykazujących skuteczność w walce z infekcjami o etiologii bakteryjnej i grzybiczej. Podjęte badania miały na celu weryfikację przyjętej hipotezy o istnieniu aktywności biobójczej wybranych miódów wobec drobnoustrojów: *Staphylococcus aureus*, CNS, *Streptococcus* sp. oraz *Candida albicans*. W pracy dokonano wstępnej oceny właściwości bakteriobójczych i przeciwgrzybiczych wybranych miódów lipowych oraz wielokwiatowych.

MATERIAŁ I METODY

Badaniami objęto 2 miody nektarowe, tzn. lipowy i wielokwiatowy, po 6 prób każdej odmiany. Miody pochodziły z terenu Lubelszczyzny i lokalnego rynku komercyjnego. Właściwości biobójcze i przeciwgrzybicze miodów analizowano wobec bakterii: *Staphylococcus aureus*, gronkowca koagulazoujemnego (ang. coagulase-negative *Staphylococci* – CNS), *Streptococcus* sp. oraz drożdżaka *Candida albicans*. Objęte badaniem drobnoustroje pochodziły z kolekcji Katedry Higieny Zwierząt i Zagrożeń Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Wytypowane mikroorganizmy posiewano na jałowe podłoża mikrobiologiczne, bakterie: *S. aureus*, CNS, *Streptococcus* sp. – na agar krwawy (BTL sp. z o.o., Polska), natomiast drożdżaka *C. albicans* – na agar Sabourauda z chloramfenikolem (BTL sp. z o.o., Polska).

Oceniając właściwości biobójcze miodów wobec wybranych drobnoustrojów, wykorzystano metodę studzienkową na podłożach stałych, w modyfikacji własnej. Wykonano inokulum z hodowli wytypowanych mikroorganizmów i wysiewano na podłoża mikrobiologiczne. Podłoża poddano inkubacji przez 24 h w temp. 37°C. W trakcie inkubacji znajdujące się w studzienkach miody dyfundowały do podłoża, czego efektem było powstanie stref zahamowania wzrostu wobec badanych drobnoustrojów w zależności od biobójczych właściwości miodów. Określono wielkość stref zahamowania wzrostu (mm), a ich średnica była proporcjonalna do logarytmów stężeń badanych substancji.

WYNIKI I DYSKUSJA

Testowane miody wielokwiatowe oraz lipowe wykazywały największą aktywność bakteriobójczą wobec paciorkowców, średnia wielkość strefy zahamowania wzrostu tych drobnoustrojów wynosiła 51 mm dla miodów wielokwiatowych oraz 54 mm dla lipowych (tab. 1). Żaden z badanych miodów nie wykazał aktywności przeciwdrobnoustrojowej – ani przeciwbakteryjnej wobec *S. aureus*, ani też przeciwgrzybiczej wobec drożdżaka *C. albicans*. Podobnie Lusby i in. [2005] nie stwierdzili aktywności trzech miodów wytwarzanych lokalnie oraz trzech dostępnych komercyjnie miodów leczniczych wobec drożdżaka *C. albicans*. Jendakże Boukraâ i in. [2013] podają, iż miody zdolne są do hamowania wzrostu zarówno drożdżaków: *C. albicans*, jak i grzybów strzępkowych, np. *Aspergillus niger*, oraz innych grzybów dermatofitowych, np. *Microsporum ferrugineum*, *Trichophyton longfeuseus*, *T. mentagrophyte*, *T. semmie*, *T. tonsurans*, grzybów pasożytniczych, np. *Allescheria boydii*, saprofitów, np. *Mucor mucaralis*, a także innych gatunków należących do rodzaju *Aspergillus*.

W porównaniu z miodami lipowymi, dla których nie zaobserwowano stref zahamowania wzrostu gronkowców koagulazoujemnych, miody wielokwiatowe wykazały aktywność biobójczą wobec tej grupy ziarenkowców. Różnica ta była zapewne spowodowana odmien-

nym składem chemicznym dwóch grup testowanych miodów. Wielu autorów podaje, że miód manuka zawdzięcza swoją aktywność przeciwdrobnoustrojową, w tym działanie hamujące wzrost *S. aureus* oraz szczepów MRSA (ang. methicillin resistant *Staphylococcus aureus*), najwyższej zawartości związków fenolowych odpowiadających za właściwości antyoksydacyjne [Cooper i in. 1999, Allen i in. 2000, Alzahrani i in. 2012, Muzzarelli i in. 2012, Almasaudi i in. 2017]. Jednakże w badaniach własnych badane miody wykazały zerową aktywność wobec *S. aureus*, co zdaje się potwierdzać hipotezę o działaniu przeciwdrobnoustrojowym miodów zależnym od ich pochodzenia i składu chemicznego.

Tabela 1. Wpływ działania ocenianych miodów na strefę zahamowania wzrostu drobnoustrojów
Table 1. Effect of tested honeys on inhibition zone diameter

Rodzaj miodu Type of honey	Numer miodu No. of honey	Strefy zahamowania wzrostu (mm) Zones of inhibition (mm)			
		<i>Streptococcus</i> sp.	gronkowce koagulazoujemne (CNS) coagulase-negative <i>Staphylococci</i>	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	<i>Candida</i> <i>albicans</i>
Wielokwiatowy Multi-flower	1	49	9	0	0
	2	50	9	0	0
	3	52	10	0	0
	4	53	11	0	0
	5	50	10	0	0
	6	52	11	0	0
	Średnia Average	51	10	0	0
Lipowy Lime	1	51	0	0	0
	2	50	0	0	0
	3	57	0	0	0
	4	55	1	0	0
	5	56	1	0	0
	6	55	0	0	0
	Średnia Average	54	0	0	0

Wyniki badań własnych pozwalają stwierdzić, iż wykorzystane w doświadczeniu miody wykazują właściwości biobójcze wobec niektórych mikroorganizmów. Dalsze badania powinny skupić się na analizie składu chemicznego wybranych pocho-

dzących z różnych regionów, występujących lokalnie oraz na ocenie właściwości biobójczych wybranych związków wobec drobnoustrojów patogennych.

WNIOSKI

1. Miód wielokwiatowy i lipowy wykazuje biobójcze właściwości wobec *Streptococcus* sp.
2. Nie potwierdzono aktywności przeciwdrobnoustrojowej badanych miodów wobec *S. aureus* i *C. albicans*.
3. Miód wielokwiatowy hamuje wzrost CNS, natomiast miód lipowy nie wykazuje takich właściwości.

PIŚMIENNICTWO

- Ahmed M., Sahile S., Subramanian C., 2014. Evaluation of antibacterial potential of honey against some common human pathogens in North Gondar zone of Ethiopia. *Int. J. Pure Appl. Zool.* 2(4), 286–295.
- Allen K.L., Hutchinson G., Molan P.C., 2000. The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VRE. *First World Wound Healing Congress*, Melbourne, Australia, 10–13.
- Almasaudi S.B., Al-Nahari A.A., El Sayed M., Barbour E., Al Muhayawi S.M., Al-Jaouni S., Azhar E., Qari M., Qari Y.A., Harakeh S., 2017. Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi J. Biol. Sci.* 24(6), 1255–1261, <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.08.007>.
- Alzahrani H.A., Alsabehi R., Boukraâ L., Abdellah F., Bellik Y., Bakhotmah B.A., 2012. Antibacterial and antioxidant potency of floral honeys from different botanical and geographical origins. *Molecules* 17(9), 10540–10549, <https://doi.org/10.3390/molecules170910540>.
- Boukraâ L., Abdellah F., Ait-Abderrahim L., 2013. Antimicrobial properties of bee products and medicinal plants. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education*. <http://www.formatex.info/microbiology4/vol2.html> [dostęp: 20.05.2017].
- Cooper R.A., Molan P.C., Harding K.G., 1999. Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *J. Roy. Soc. Med.* 92(6), 283–285.
- Kato Y., Umeda N., Maeda A., Matsumoto D., Kitamoto N., Kikuzaki H., 2012. Identification of a novel glycoside, leptosin, as a chemical marker of manuka honey. *J. Agr. Food Chem.* 60(13), 3418–3423, <https://doi.org/10.1021/jf300068w>.
- Lusby P.E., Coombes A.L., Wilkinson J.M., 2005. Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Arch. Med. Res.* 36(5), 464–467, <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.03.038>.
- Mandal M.D., Mandal S., 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 1(2), 154–160, [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60016-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60016-6).
- Molan P.C., Cooper R.A., 2000. Honey and sugar as a dressing for wounds and ulcers. *Trop. Dr* 30(4), 249–250, <https://doi.org/10.1177/004947550003000429>.

- Mundo M.A., Padilla-Zakour O.I., Worobo R.W., 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. *Int. J. Food Microbiol.* 97(1), 1–8, <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.025>.
- Muzzarelli R.A.A., Greco F., Busilacchi A., Sollazzo V., Gigante A., 2012. Chitosan, hyaluronan and chondroitin sulfate in tissue engineering for cartilage regeneration: a review. *Carbohydr. Polymers* 89, 723–739, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.04.057>.
- Oelschlaegel S., Gruner M., Wang P.N., Boettcher A., Koelling-Speer I., Speer K., 2012. Classification and characterization of manuka honeys based on phenolic compounds and methylglyoxal. *J. Agric. Food Chem.* 60(29), 7229–7237, <https://doi.org/10.1021/jf300888q>.
- Osés S.M., Pascual-Maté A., Fuente D. de la, Pablo A. de, Fernández-Muiño M.A., Sancho M.T., 2016. Comparison of methods to determine antibacterial activity of honeys against *Staphylococcus aureus*. *NJAS-Wagen. J. Life Sci.* 78, 29–33, <https://doi.org/10.1016/j.njas.2015.12.005>.
- Samarghandian S., Farkhondeh T., Samini F., 2017. Honey and health: A review of recent clinical research. *Pharmacogn. Res.* 9(2), 121–127, <https://doi.org/10.4103/0974-8490.204647>.
- Vallianou N.G., Gounari P., Skourtis A., Panagos J., Kazazis C., 2014. Honey and its anti-inflammatory, anti-bacterial and anti-oxidant properties. *Gen. Med.* 2(132), 1–5, <https://doi.org/10.4172/2327-5146.1000132>.
- Zaghoul A.A., El-Shattawy H.H., Kassem A.A., Ibrahim E.A., Reddy I.K., Khan M.A., 2001. Honey, a prospective antibiotic: Extraction, formulation, and stability studies. *Pharmazie* 56, 643–647.

Summary. The growing antibiotic resistance of pathogenic microorganisms forces researchers to search for natural sources of compounds showing antimicrobial activity. Honeys are characterized by a high antioxidant potential and a diversified chemical composition depending on their origin – the climate zone and species of plants used by bees to produce them. In the present study antimicrobial and antifungal properties of honeys from the Lublin region as well as those available locally on the commercial market against the most important pathogenic microorganisms: streptococci, coagulase-positive (*Staphylococcus aureus*) and coagulase-negative staphylococci as well as yeast *Candida albicans* were analysed. Examined honeys showed a high antibacterial potential against streptococci and a moderate one against coagulase-negative staphylococci. No growth of the inhibition zone of both *S. aureus* and *C. albicans* was observed.

Key words: antibacterial properties, antifungal properties, antimicrobial activity, honey

Otrzymano:/ Received: 10.12.2018
Zaakceptowano:/ Accepted: 15.01.2019