دراسة فعالية مستخلص العكبر الكحولي والمائي كمطهر لبيض الفقس ومقارنته بالطريقة التقليدية

* محمد قاسم أبو جاسم ** أ.د محمد علي العمادي

(الإيداع: 18 تشرين الثاني 2018 ، القبول: 31 كانون الأول 2018)

الملخص:

إن تطهير بيض الفقس عملية أساسية والطريقة الأكثر انتشارا" في الحقل هي التبخير بالفورم ألدهيد وقد صنفت من منظمة الصحة العالمية كأحد المواد السامة التي تسبب مشاكل صحية كثيرة، وكوسيلة لإيجاد بديل صحي عنها تم جمع 400 من بيض أمهات دجاج اللحم المعدة للتفقيس وتم تقسيمها لأربع مجموعات تضم المجموعة الأولى 150 بيضة قسمت لثلاث مجموعات (A_1– B_1– C_1) بمعدل 50 بيضة في كل مجموعة وتم استخدام طريقة التطهير بمستخلص العكبر الكحولي عليها بتراكيز (15%–10%–5%) على الترتيب والمجموعة الثانية أيضا" مكونة من 150 بيضة قسمت لثلاث مجموعات (A_2–B_2–C_2) بمعدل 50 بيضة في كل مجموعة وتم استخدام طريقة التطهير بمستخلص العكبر المائي عليها بتراكيز (15%–10%–5%) على الترتيب والمجموعة الثالثة مكونة من 50 بيضة وتم استخدام طريقة التطهير بالتبخير بالفورم ألدهيد عليها والمجموعة الرابعة مكونة من 50 بيضة تركت دون تطهير كشاهد. أشارت النتائج وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 5% بين مجموعات التطهير المختلفة وأظهر مستخلص العكبر الكحولي فعالية كبيرة وخاصة عند التركيز 15% حيث تفوق على فعالية الفورم ألدهيد كمعقم أما المستخلص المائي فلم ينافس الفورم ألدهيد ولكن اقترب من فعاليته عند التركيز 15%.

الكلمات المفتاحية: تطهير بيض الفقس، مستخلص العكبر الكحولي، مستخلص العكبر المائي، التبخير بالفورم ألدهيد

*طالب دراسات عليا (ماجستير)–اختصاص أمراض الدواجن– قسم أمراض الحيوان–كلية الطب البيطري–جامعة حماة.

** أستاذ أمراض الدواجن–قسم أمراض الحيوان–كلية الطب البيطري– جامعة حماة.

studeing the effectiveness of the alcohol and water Propolis extract as a disinfectant for hatching eggs and compare it with the conventional method

*Vet. Mohamad abo gasem Prof. Dr. Mohamad alemade**

(Received: 18 November 2018, Accepted: 31 December 2018)

Abstract:

disinfection hatching eggs is a basic process and the most widespread method in field is fumigation with formaldehyde which is classified by the World Health Organization as a toxic substance that causes many health problems. As a means of finding a healthy alternative, 400 eggs were collected from breeder's hatching eggs then divided into four groups The first group consisted of 150 eggs divided into three groups (A_1, B_1 and C_1) with 50 eggs in each group and disinfection with the alcohol propolis extract of the concentrations (5%, 10% and 15%) ,respectively. The second group consisted of 150 eggs divided into three groups (A_2, B_2, and C_2) with 50 eggs in each group and disinfection with the aqueous propolis extract of the concentrations (5%, 10%; 15%), respectively, and the third group is made up of 50 egg disinfected by fumigation with formaldehyde and the fourth group is made up of 50 egg left without disinfection as a witness. The results showed significant differences between treatments at 5% significance among the various disinfectant groups. The efficacy of the alcohol extract, especially at the concentration of 15%, was superior to the effectiveness of formaldehyde as a disinfectant. The water extract did not compete with formaldehyde, But approached its effectiveness at 15% concentration.

.

Keywords: disinfection hatching eggs, alcohol propolis extract, water propolis extract, formaldehyde Fumigation.

---

*Postgraduate student (Master) – Specialization of poultry diseases – Department of Animal Diseases – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.

**Professor of Poultry Diseases, Department of Animal Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Hama University.

1-المقدمة: introduction

تكمن أهمية صناعة الدواجن في الجمهورية العربية السورية باعتبارها أحد أهم مصادر تأمين البروتين الحيواني (لحم – بيض) لرخص ثمنه وسهولة هضمه وانخفاض نسبة الدهون فيه إضافة لقيمته الغذائية الكبيرة.

ونظرا" لزيادة الطلب على منتجات الدواجن والأهمية الكبيرة التي تشغلها فإن هناك ضرورة ملحة للعمل على مراحل الإنتاج المختلفة بطرق تحقق الغاية المرجوة وهي الإنتاج الكثيف بتكاليف اقتصادية مع المحافظة على الشروط الصحية التي تكفل سلامة البيئة المحيطة وصحة العمال.

وفي هذا المجال تم إجراء العديد من الدراسات والبحوث حول عملية التطهير للبيض المخصبة والمعدة للفقس حيث أكد **هودجيت عام (1994) (Hodgetts,B,1994)** أنه يجب الوقاية من التلوث البكتيري والفيروسي والفطري إذ أن البيض النظيف يعطي معدل تفريخ أفضل من البيض الملوث بغض النظر عن معالجات التطهير المستخدمة على سطح القشرة .

وأكد الباحثين **وايت وكيني عام (1974) (Whit,f.n.,kinney,j.l. 1974)** أن محتويات البيضة الموضوعة حديثا" تتقلص في أثناء تبردها فينسحب الهواء إلى الداخل عبر مسام القشرة حاملا" معه التلوث الموجود عليها لذلك يجب أن تكون الأعشاش نظيفة باستمرار مع ضرورة تطهير البيض بعد جمعه مباشرة وهو ما يزال دافئ.

توصل الباحث **رالف عام (2002) (Ralph.A.2002)** إلى أن مفتاح النجاح لإنتاج صيصان ذات نوعية جيدة يكمن في الحصول على مستويات عالية من نظافة بيض التفريخ لأن الجراثيم تنتقل من سطح القشرة إلى القرص الجنيني داخل البيضة أو إلى الصيصان الفاقسة مما يسبب مشاكل صحية وخسائر اقتصادية.

الضرورة الملحة حول تطهير قشرة بيض الفقس أصبحت من البديهيات في مجال صناعة الدواجن وهذا لم يتولد مؤخرا" ففي عام **(1908)** تم استخدام الفورم ألدهيد في تطهير بيض الفقس من قبل الباحث **بيرنوت (Pernot.E.F.1908)** وفي عام **(1926)** أجرى الباحث **جواتكن (Gwatkin.R.1926)** دراسة قام فيها ببعض التجارب على تطهير البيض والمفاقس.

1-1- استخدام الفورم ألدهيد في عملية تطهير قشرة بيض الفقس:

عرف كل من الباحث **بروسويل** وزملاؤه **(1970) (Braswell.J.R.et al.1970)** الفورم ألدهيد **(H2CO, formalin, formol)** بأنه عبارة عن غاز يستخدم في درجة حرارة الغرفة وهو قابل للذوبان في الماء بسهولة ويستخدم عادة كمطهر نظرا" لرخص ثمنه وكونه لا يسبب التأكل للأسطح المعقمة وهو يقتل معظم أنواع الجراثيم والفطريات بما في ذلك أبواغها.

وأشار الباحثين **هوجو وروزويل** عام **(1992) (Hugo, W.B., Russell, A.D.1992)**أن أول استخدام للفورم ألدهيد كمطهر كان في عام (1892) كما أن الباحث **بيرنوت Pernot** كان أول من بحث حول إمكانية استخدام الفورم ألدهيد في تبخير بيض الفقس والحضانات كوسيلة للسيطرة على الأمراض التي تصيب الدواجن في **عام (1908)**. وعلى الرغم من فعالية هذه الطريقة في المحافظة على مستويات منخفضة من التلوث ونسبة مرتفعة من التفقيس إلا أنه من الضروري أن نسلط الضوء على أن الفورم ألدهيد سام ليس فقط للطيور وإنما أيضا" للإنسان.

كاسل وزملاؤه عام (1989) (CASTEEL. J.H.et al.1987) أثبت أن التعرض لغاز الفورم ألدهيد يمكن أن يؤذي الأغشية الخلوية مسببا" لأعراض تهيج في العين والجلد ومشاكل تنفسية مثل الوزمة الرئوية.

كما وجد كل من الباحثين **هيرتيدا وكولانكايا عام (2008) (Hayretda, S., Kolankaya, D, 2008)**أن التبخير بالفورم ألدهيد في الفترة الأولى من التحضين يسبب بتراجع في حجم وعدد خلايا الطبقة الظهارية للمجاري التنفسية عند الأجنة والفراخ ، صنفت الوكالة الدولية لأبحاث السرطان في عام (2006) الفورم ألدهيد كمسرطن نتيجة لارتباطه بسرطان البلعوم الأنفي لدى الإنسان.

كما أشار الباحث **هوبتمان وزملاؤه عام (2009) (Hauptmann.M.et al.2009)** أنه قد لوحظت زيادة في الوفيات بسبب الأورام اللمفاوية، وخاصة سرطان الدم النخاعي وسرطان المخ الذي يصيب علماء التشريح وعلماء الأمراض والعمال الذين يعملون في تحنيط الجثث والجنائز، لتعرضهم للفورم ألدهيد.

وأشار الباحثين **سكوت وسويتنام عام (1993) (Scott, T.A. Swetnam, C. ,(1993)a)** أن العاملين في صناعة الدواجن يتعرضون بشكل مستمر إلى الفورم الدهيد بمستويات تعتبر أعلى من المستوى المسموح به.

في هذا المجال قام كل من الباحثين **بريك وشلدون عام (1990) (Brake .j. Sheldon. b.w.1990)** بإثبات المخاطر التي تترافق مع استخدام الفورم ألدهيد كمعقم.

كما أشار الباحث **اوسانماز وزملاؤه عام (2002) (Usanmaz. SE.et al.2002)** أن التعرض للجرعات المنخفضة **(0.05** جزء في المليون) من الفورم ألدهيد يمكن أن تؤثر على العين والجهاز العصبي والجهاز التنفسي العلوي، في حين أن الجرعات العالية (**5**جزء في المليون) من التعرض قد يؤدي إلى تلف الجهاز التنفسي السفلي. في حالات الجرعات العالية جدا من التعرض، يمكن أن يحدث الموت.

1-2- استخدام العكبر في عملية تطهير قشرة بيض الفقس:

يعد العكبر مادة راتنجية يجمعها نحل العسل من البراعم وقلف الأشجار وله ألوان مختلفة حيث يستخدمه النحل في إصلاح الخلية وإغلاق الفتحات والثقوب الصغيرة كما يستخدمه أيضا" في تحنيط الحشرات الميتة وكمضاد للجراثيم والأحياء الدقيقة التي تهدد الخلية حسب ما أشار الباحث **ماركوسي عام (1995) (Marcucci, M.C. 1995)**

ووجد الباحث **غوميز كارفاكا وزملاؤه عام (2006) (Gomez–Caravaca, A.2006)** أن العكبر هو ثالث أهم عنصر من منتجات النحل، ويتكون أساسا من الراتنج (50٪)، والشمع (30٪)، والزيوت العطرية (10٪)، وحبوب اللقاح (5٪)، والمركبات العضوية الأخرى (5٪) ،كما أشار الباحث **هوانغ وزملاؤه عام (2014) (Huang.S.et al.2014)** أن أهم المركبات العضوية الموجودة بالعكبر هي المركبات الفينولية، الاسترات، الفلافونويدات، التربين، بيتا ستيروید، الألدهيدات العطرية، والكحول حيث يحتوي من المركبات الفينولية على اثنا عشر فلافونويد مختلفة، وهي بينوكيمبرين، أكاسيتين، كريسين، روتين، لوتولين، كامبفيرول، أبيجينين، ميريسيتين، كاتشين، نارينجينين، غالانجين، و كيرسيتين. بالإضافة اثنين من الأحماض الفينولية، حمض الكافيك وحامض السينامیك. كما أشار الباحث **فولبي عام (2004) (Volpi. N. 2004)** إلى الكشف عن مشتقات ستيلبين واحدة تسمى ريسفيراترول في مستخلصات العكبر.

أما بالنسبة لاستخدام العكبر كمعقم فإن الدراسة التي قام بها كل من **علي ودورموس عام(2013) (Ali,a.,Durmus,s.2013)** أثبتت أن العكبر يمكن أن يستخدم بفعالية لتقليل النشاط الجرثومي على سطح بيض الفقس أثناء التخزين والتحضين دون أي تأثيرات على نسبة الفقس ووجد الباحث **فيليا وزملاؤه عام (2012) (Vilela, C.O.et al.2012)** أن العكبر بوصفه مركب طبيعي يمكن اعتباره بديل جيد للفورم ألدهيد في عملية تطهير بيض الفقس فعند استخدام مستخلص العكبر الكحولي بتركيز **240 µg** وتركيز **2,400 µg** كان له تأثير أفضل من الفورم ألدهيد في القضاء على الفطور.

ويفسر التأثير المثبط لمستخلصات العكبر لوجود مركبات فينولية والتي لها فعالية مضادة للجراثيم السالبة والموجبة لصبغة غرام **الأسدي** وزملاؤه عام (2000)، حيث تقوم الفينولات بتحطيم البروتين الجرثومي وإيقاف عمل الأنزيمات المسؤولة عن التفاعلات الأيضية الأساسية وبالتالي عدم قدرة الكائن الحي على الإستمرار **السلامي وزملاؤه عام (2000)**

وقد اعتبر كل من الباحثين **أموروس وزملاؤه عام (1994) (Amoros, M.et al.1994)** مركبات الفلافونات من أهم المركبات الرئيسية ذات الفعالية البيولوجية في العكبر .

كما ذكر الباحث **هاربورن عام (1984) (Harborn, G.B. 1984)** أن القلويدات الموجودة في العكبر والتي تعد من المركبات الكيميائية الفعالة في النباتات الطبية يمكن أن تلعب دور في فعالية العكبر ضد الجراثيم.

كما أشار الباحث **بارك وزملاؤه (1997) (Park, Y.K.et al.1997)** إلى أن حامض الكافييك وحامض السيناميك واستراته الموجودة في العكبر يمكن أن تلعب أيضا" دورا" في الفعالية البيولوجية للعكبر.

كما أشار الباحث **لي وزملاؤه عام (2009) (Li, F,et al.2009)**أن تكوين المادة الكيميائية في العكبر يعتمد على التنوع البيولوجي للمناطق التي تقوم عاملات النحل بزيارتها .

2- مواد وطرائق البحث:Material and Methods

2-1- تحضير مستخلصات العكبر:

تم استخدام المستخلص الكحولي للعكبر بثلاث تراكيز **(5%)** و**(10%)** و**(15%)** العكبر المستخدم في عملية التطهير تم جمعه من خلايا النحل المتواجدة في ريف محافظة حماة في نفس عام إجراء البحث وتم إجراء عملية الاستخلاص حسب الطريقة التي تم ذكرها من قبل الباحث **كريل عام (1996) (Krell, R, 1996)**كما يلي:

يحدد التركيز اللازم الحصول عليه من عملية الاستخلاص يصب الكحول فوق كمية العكبر في وعاء الاستخلاص وترج لفترة قصيرة وتترك بعدئذٍ في مكان دافئ ومظلم على الأقل **3** أيام (تعاد عملية الرج مرة أخرى بحيث يتم الرج مرتين على الأقل خلال اليوم)، بعد أسبوع أو أسبوعين يتم فلترة المزيج باستخدام الفلاتر الدقيقة أو عدة طبقات من القطن الطبي، ثم يحفظ المستخلص الناتج في البراد عند درجة حرارة **4** سلزيوس لعدة ساعات، ثم تعاد عملة الفلترة للحصول على نقاوة أفضل ويحفظ المستخلص النهائي في عبوات زجاجية داكنة ونظيفة.

(مستخلص5%: 50 غ عكبر إلى 950 غ كحول) و(مستخلص**10%**: **100**غ عكبر إلى **900** غ كحول) و(مستخلص15%: 150غ عكبر إلى 850 غ كحول).

كما تم استخدام المستخلص المائي للعكبر بثلاث تراكيز **(5%)** و**(10%)** و**(15%)**، وتم إجراء عملية الاستخلاص حسب الطريقة التي تم ذكرها من قبل الباحث **كريل عام (1996) (Krell, R, 1996)**كما يلي:

يتم وضع العكبر في إناء زجاجي وفق النسب المحددة ويضاف فوقه الماء ويرج مرتين يومياً ويترك لمدة تتراوح من **10** ساعات إلى ثلاثة أيام على الأقل، وتتبع نفس الخطوات المتبعة في الطريقة الأولى. بعد أسبوع أو أسبوعين يتم فلترة المزيج باستخدام الفلاتر الدقيقة السابقة الذكر أو عدة طبقات من القطن الطبي، ثم يحفظ المستخلص الناتج في البراد عند درجة حرارة **4** سلزيوس لعدة ساعات، ثم تعاد عملية الفلترة للحصول على نقاوة أفضل، يحفظ المستخلص النهائي في عبوات زجاجية داكنة ونظيفة ومحكمة الإغلاق في البراد.

2-2- جمع العينات:

تم جمع **(400)** عينة من بيض دجاج أمهات اللحم بعمر **(30)** أسبوع من مزرعة تربية خاصة وتم اختيارها بمواصفات مناسبة لعملية التفقيس بحيث تكون (غير متسخة –غير مشروخة _طبيعية_ ليست صغيرة جدا" _ليست كبيرة جدا") وتم تقسيمها لأربع مجموعات ثم إجراء عمليات التطهير التالية عليها خلال مدة لا تتجاوز الساعتين من لحظة الجمع كما يلي:

2-2-1- المجموعة الأولى التطهير باستخدام المستخلص الكحولي للعكبر: تم تخصيص **(150)** بيضة لهذه المجموعة وتم تقسيم هذه المجموعة لثلاث مجموعات تضم كل مجموعة **50** بيضة:

- مجموعة التطهير (A_1) باستخدام المستخلص الكحولي للعكبر تركيز**5%**.
- مجموعة التطهير (B_1) باستخدام المستخلص الكحولي للعكبر تركيز **10%**.
- مجموعة التطهير (C_1) باستخدام المستخلص الكحولي للعكبر تركيز**15%**.

2-2-2- المجموعة الثانية التطهير باستخدام المستخلص المائي للعكبر:

تم تخصيص **(150)** بيضة لهذه المجموعة وتم تقسيم هذه المجموعة لثلاث مجموعات تضم كل مجموعة 50 بيضة:

- مجموعة التطهير (A_2) باستخدام المستخلص المائي للعكبر تركيز **5%**.
- مجموعة التطهير (B_2) باستخدام المستخلص المائي للعكبر تركيز **10%**.
- مجموعة التطهير (C_2) باستخدام المستخلص المائي للعكبر تركيز **15%**.

2-2-3- المجموعة الثالثة التطهير باستخدام التبخير بالفورم ألدهيد (الطريقة التقليدية):

تم تخصيص **(50)** بيضة لهذه المجموعة التبخير بالفورم ألدهيد.

2-2-4- المجموعة الرابعة:

تم ترك **(50)** بيضة كشاهد بدون أي عمليات تطهير.

2-3- تطبيق عمليات التطهير:

المجموعة الأولى والثانية: تم تغطيس بيض المجموعات (A_1) و (B_1) و (C_1) في المستخلص الكحولي بتراكيزه الثلاث **(5%)** و**(10%)** و**(15%)** حسب الترتيب وتغطيس بيض المجموعات (A_2) و (B_2) و (C_2) في المستخلص المائي بتراكيزه الثلاث **(5%)** و**(10%)** و**(15%)** حسب الترتيب وذلك (لمدة خمس دقائق لكل بيضة) .حسب الباحث **مولدين عام (2002)** **(Mauldin,j.m. 2002)** .

المجموعة الثالثة: تم تطهير بيض هذه المجموعة بالتبخير بالفورم ألدهيد حسب توصيات الباحث **أنيموس عام (1977)** **(Anonymous, 1977)**.

2-4- طريقة جمع الحمولة الجرثومي من قشرة البيض:

تم تنفيذ التعداد البكتيري للحمولة الجرثومية المتواجدة على قشرة البيض بنفس الطريقة لمجموعات الشاهد الغير معالجة ولمجموعات البيض المعالجة بالمعقمات المعتمدة في التجارب حيث تم وضع البيض في أكياس من النايلون المعقمة القابلة للإغلاق بالسحب وحاوية على **(20)** مل من سائل **(PBS)** المعقم (بيضة في كل كيس) ثم تم تدليك كل بيضة داخل الكيس لمدة دقيقة لإزالة البكتريا الموجودة على القشرة الخارجية للبيضة وبعد اكتمال عملية الجمع فتحت الأكياس وتم أخذ **(10)** مل من محلول الشطف ووضعه في أنبوب معقم فارغ ليتم تمديد محلول الشطف المأخوذ تمديدات مختلفة ومن ثم يزرع **(0.1)** مل من السائل الممدد بطريقة الفرش على سطح المنبت ومن ثم يتم التحضين على درجة حرارة **37** مئوية لمدة **24-48** ساعة، وبعد التحضين تم إجراء عد المستعمرات النامية (تم اعتماد التمديد بحيث يكون عدد المستعمرات النامية على الطبق بين **10-300** مستعمرة وعندما يتجاوز عدد المستعمرات النامية على الطبق **300** مستعمرة فإنه يتم اعتماد التمديد التالي الأقل تركيزا")

2-5- التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج باستخدام برنامج التحليل الإحصائي **(IBM SPSS STATISTICS)** بالإصدار 22 عن طريق اختبار تحليل التباين أحادي الاتجاه **(One-Way-ANOVA)** وذلك للمقارنة بين المتوسطات من خلال حساب قيمة أقل فرق معنوي (L.S.D) عند مستوى المعنوية (5%) وقيمة الانحراف المعياري **SD** ومعامل الاختلاف **CV** (%).

3- النتائج: RESULTS

تم التعبير عن المستويات العامة للحمولة الجرثومية لقشرة بيض الفقس بـ (log CFU/egg)

3-1- نتائج التطهير بالمستخلص الكحولي للعكبر:

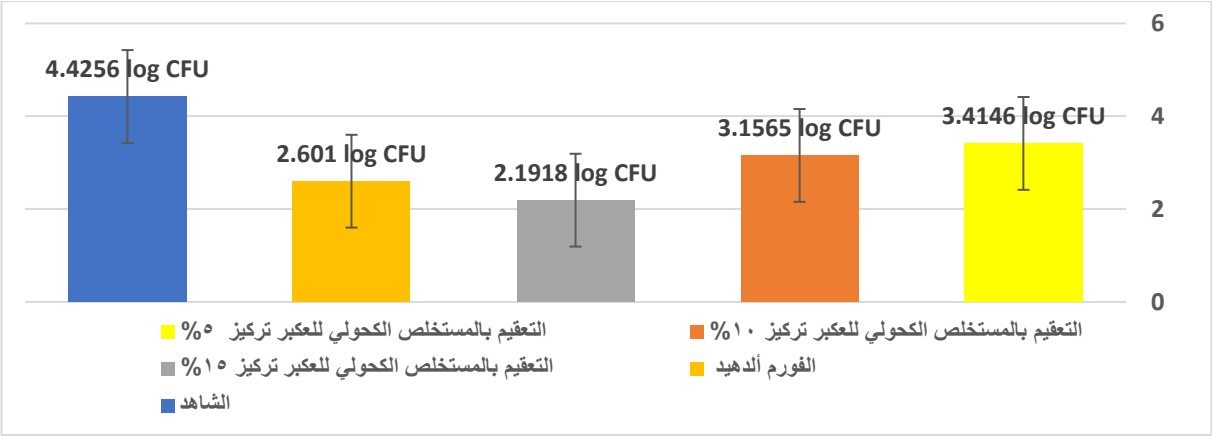
أظهرت نتائج الزرع الجرثومي من البيض الذي خضع للتطهير بالمستخلص الكحولي للعكبر فعالية واضحة لهذه المستخلصات والتي ازدادت طردا" مع ازدياد تركيز المستخلص حيث أظهرت نتائج الزرع الجرثومي للبيض الذي طهر بالمستخلص الكحولي للعكبر بتركيز (5%) قيمة (3.4146 log CFU/egg) والبيض الذي طهر بالمستخلص الكحولي للعكبر تركيز (10%) قيمة (3.1565 log CFU/egg) والبيض الذي طهر بالمستخلص الكحولي للعكبر بتركيز (15%) قيمة (2.1918 log CFU/egg) والنتيجة الأخيرة تظهر تفوق لمستخلص العكبر الكحولي بتركيز (15%) على طريقة التطهير بالفورم ألدهيد والتي كانت (2.6010 log CFU/egg) كما هو موضح بالجدول رقم (1).

الجدول رقم (1) تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص العكبر الكحولي على الحمولة الجرثومية لبيض الفقس ومقارنته مع التبخير بالفورم ألدهيد ومجموعة الشاهد:

طريقة التطهير	Mean(log_{10} CFU/egg)	الانحراف المعياري SD
مستخلص العكبر الكحولي تركيز(5%)	3.4146 a	0.03169
مستخلص العكبر الكحولي تركيز(10%)	3.1565 b	0.04424
مستخلص العكبر الكحولي تركيز(15%)	2.1918 c	0.07160
الفورم ألدهيد	2.6010 d	0.07295
البيض الغير مطهر (الشاهد)	4.4256 e	0.12904
معامل الاختلاف (%)CV	24.4%	
قيمة (أقل فرق معنوي) (LSD)	0.03055*	

*(P<0.05) و a,b,c,d تدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود و CV (%) معامل الاختلاف.

تشير النتائج الواردة في الجدول رقم (1) وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% بين متوسطات التراكيز الثلاثة للمستخلص الكحولي للعكبر وبين الفورم ألدهيد والشاهد (البيض الذي لم يخضع لأي عملية تطهير) ،حيث كانت قيمة (أقل فرق معنوي) (LSD) *0.03055 وتراوحت متوسطات التراكيز المدروسة و الفورم ألدهيد والشاهد ما بين (2.1918-4.4256) وكان أدنى متوسط في التركيز **15%** وأعلى متوسط في الشاهد بينما تراوحت الانحرافات المعيارية للتراكيز المدروسة و الفورم ألدهيد و الشاهد ما بين (0.03169-0.12904) أما معامل الاختلاف cv قد بلغ % 24.4 و يُوضَح الشكل رقم (1) مقارنة التراكيز الثلاثة **(15%-10%-5%)** لمستخلص العكبر الكحولي والفورم ألدهيد والشاهد من حيث مستوى الحمولة الجرثومية.



الشكل رقم (1): مقارنة التراكيز الثلاثة (5%، 10%، 15%) لمستخلص العكبر الكحولي مع الفورم ألدهيد والشاهد من حيث مستوى الحمولة الجرثومية

3-2-نتائج التطهير بالمستخلص المائي للعكبر:

أظهرت نتائج الزرع الجرثومي من البيض الذي خضع للتطهير بالمستخلص المائي للعكبر فعالية مقبولة لهذه المستخلصات عند التراكيز المرتفعة للعكبر حيث كانت نتائج الزرع الجرثومي للبيض الذي طهر بالمستخلص المائي للعكبر بتركيز (5%) (4.3021 log CFU/egg) وهي قيمة مرتفعة للتلوث الجرثومي وتشير لضعف فعالية المستخلص المائي للعكبر كمعقم عند هذا التركيز أما البيض الذي طهر بالمستخلص المائي للعكبر بتركيز (10%) فكانت قيمة التلوث الجرثومي (3.2557 log CFU/egg) أيضا "تدل على ضعف فعالية المستخلص عند هذا التركيز والبيض الذي طهر بالمستخلص المائي للعكبر بتركيز (15%) قيمة (3.2429 log CFU/egg) وجميع النتائج السابقة تظهر تفوق طريقة التطهير بالفورم ألدهيد والتي كانت (2.6010 log CFU/egg) على المستخلص المائي للعكبر بجميع تراكيزه. كما هو موضح بالجدول رقم (2).

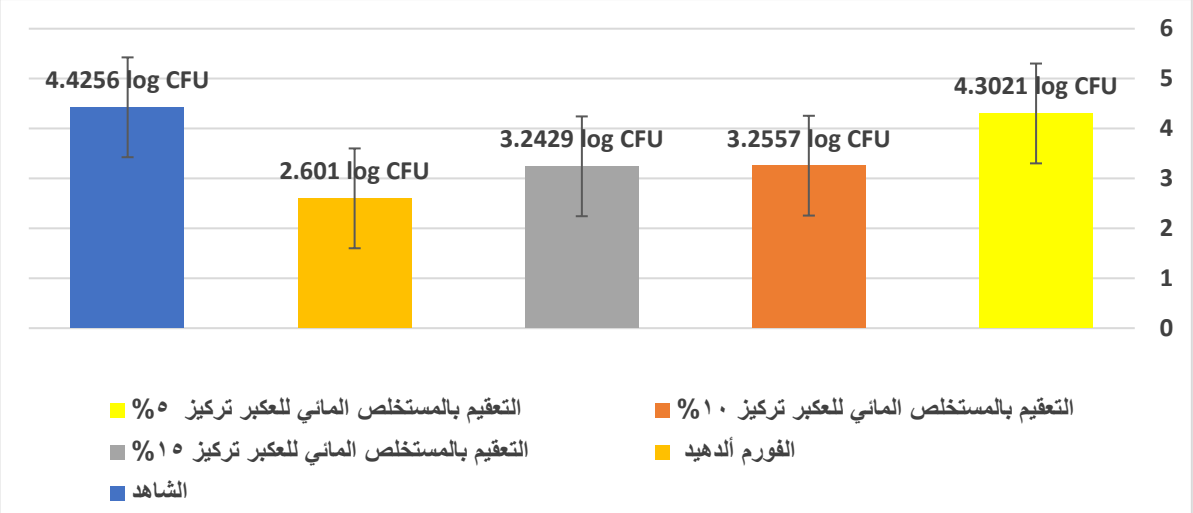
الجدول رقم (2) تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص العكبر المائي على الحمولة الجرثومية لبيض الفقس ومقارنته مع التبخير بالفورم ألدهيد ومجموعة الشاهد:

طريقة التطهير	Mean(log_{10} CFU/egg)	الانحراف المعياري SD
مستخلص العكبر المائي تركيز(5%)	4.3021 a	0.02932
مستخلص العكبر المائي تركيز(10%)	3.2557 b	0.03868
مستخلص العكبر المائي تركيز(15%)	3.2429 b	0.03455
الفورم ألدهيد	2.6010 c	0.07295
البيض الغير مطهر (الشاهد)	4.4256 d	0.12904
معامل الاختلاف CV(%)	16.9%	
قيمة (أقل فرق معنوي) (LSD)	0.02815 *	

*(P<0.05) و a,b,c,d تدل على وجود فروقات معنوية ذات دلالة احصائية عند مستوى الدلالة 5% في حال اختلافها ضمن نفس العمود و CV (%) معامل الاختلاف.

تشير النتائج الواردة في الجدول رقم (2) وجود فروقات معنوية ذات دلالة إحصائية عند مستوى الدلالة 5% بين متوسطات التراكيز الثلاثة (15%-10%-5%) لمستخلص العكبر المائي والفورم ألدهيد والشاهد ولم تظهر هناك فروق معنوية بين التركيزين **(15%-10%)** حيث كانت قيمة (أقل فرق معنوي) (LSD) وتراوحت متوسطات التراكيز المدروسة و الفورم ألدهيد والشاهد ما بين (4.4256-2.6010) وكان أدنى متوسط في الفورم ألدهيد وأعلى متوسط في الشاهد بينما تراوحت الانحرافات المعيارية للتراكيز المدروسة و الفورم ألدهيد والشاهد ما بين (0,12904-0.02932) أما معامل الاختلاف cv قد بلغ (16.9%).

كذلك يُوضّح الشكل رقم (2) مقارنة التراكيز الثلاثة **(15%-10%-5%)** لمستخلص العكبر المائي والفورم ألدهيد والشاهد من حيث مستوى الحمولة الجرثومية.



الشكل رقم (2) مقارنة التراكيز الثلاثة (5%، 10%، 15%) لمستخلص العكبر المائي مع الفورم ألدهيد والشاهد من حيث مستوى الحمولة الجرثومية

4- المناقشة:

إن الحمولة الجرثومية المتواجدة على قشرة بيض الفقس تختلف بشكل واسع من مزرعة إلى أخرى وذلك حسب فعالية إجراءات الأمن الحيوي المتبعة في كل مزرعة إلا أنها بشكل عام تصل إلى مستويات مرتفعة نسبيا" حيث أظهرت النتائج التي حصلنا عليها في هذه الدراسة من البيض الذي ترك دون تطهير كشاهد، أعلى قيمة لـ (log CFU) مقارنة مع المجموعات الأخرى من البيض التي خضعت للتطهير والتي كانت (4.4256 log CFU) والتي اختلفت معنويا" عن جميع المجموعات الأخرى الذي طهر بالمعقمات المدروسة ($P<0.05$). وهذا اتفق مع دراسة أجراها الباحث **فيليا وزملاؤه عام (2012)** **(Vilela, C.O.et al.2012)** لمقارنة تراكيز مختلفة من مستخلص العكبر الكحولي كمعقم بديل عن الفورم ألدهيد.

كما أظهرت النتائج التي حصلنا عليها من خلال هذه الدراسة انخفاض واضح للحمولة الجرثومية في مجموعات البيض التي عوملت بمستخلص العكبر الكحولي بتراكيزه الثلاث.

فمستخلص العكبر الكحولي بتركيز(15%) سبب انخفاض في مستوى الحمولة الجرثومية بقيمة (2.1918 log CFU) مقارنة مع مجموعة الشاهد وهذا يؤكد الفعالية المثبطة للجراثيم التي يتميز بها العكبر والذي يتوافق مع ما وجده **علي ودورموس عام(2013)** **(Ali,a.,Durmus,s.2013)** ويعزى ذلك للتأثير المثبط الذي يتميز به العكبر ضد الجراثيم

والذي أثبته الباحث **ميورين وزملاؤه عام (2003) (Miorin, P.L.et al,2003)** الذين أكدوا على فعالية العكبر ضد طيف واسع من الجراثيم وخاصة إيجابية الغرام.

كما أظهرت الدراسة وجود فروق معنوية بين التراكيز المختلفة ($p<0.05$) فمستخلص العكبر الكحولي بتركيز (15%) أظهر فعالية عالية ضد الجراثيم (2.1918 log CFU) بينما كان مستخلص العكبر الكحولي بتركيز(5%) الأقل فعالية (3.4146 log CFU) وهذا يدل على الفعالية المتزايدة لمستخلصات العكبر الكحولية مع ازدياد تركيز المستخلص وهذا يتوافق مع دراسة **علي ودورموس عام(2013) (Ali,a.,Durmus,s.2013)** حيث أظهرت الدراسة انخفاض مستوى الحمولة الجرثومية مع ازدياد تركيز مستخلص العكبر المستخدم في عملية التطهير. وربما يمكن تفسير ذلك كون المستخلص ذو التركيز المرتفع يحتوي على كمية أكبر من العكبر الخام مما يعني زيادة في المواد الفعالة الموجودة في المستخلص وهذا يتوافق مع ما استنتجه **كريل عام (1996) (Krell, R, 1996)** .

كما أظهرت نتائج الدراسة تفوق مستخلص العكبر الكحولي في التركيز(15%) على الفورم ألدهيد في التقليل من الحمولة الجرثومية على قشرة بيض الفقس وهذه النتيجة اختلفت عن ما وجده الباحث **فيليا وزملاؤه عام (2012)(Vilela, C.O.et al.2012)** حيث تم استخدام العكبر في عملية تطهير بيض الفقس بتركيز **240 µg** وتركيز **2,400 µg** وربما يعزى هذا الإختلاف إلى التباين بين التراكيز المستخدمة في هذه الدراسة بالمقارنة مع التراكيز التي اعتمدت في دراستنا أو إلى اختلاف مصدر المادة الخام للعكبر المستخدم وهذا ما أشار إليه كل من **بارخ وشاندا عام (2006) (Parekh, J and Chanda., S, 2006)** على أن الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلصات تختلف باختلاف التركيب الكيميائي للعكبر أو بسب اختلاف طبيعة أغشية الأحياء المجهرية وطبيعة نفاذ المواد خلالها. إلا أن الدراسة التي قام بها الباحث **فيليا وزملاؤه عام (2012)(Vilela, C.O.et al.2012)** على رغم من الاختلاف مع نتائجنا إلا أنها أكدت فعالية العكبر ضد الجراثيم وإمكانية استخدام مستخلص العكبر الكحولي كبديل عن الفورم ألدهيد في تطهير بيض الفقس.

أما بالنسبة لمستخلص العكبر المائي فقد أظهرت النتائج وجود فعالية مضادة للجراثيم لمستخلص العكبر المائي إلا أنها أقل من فعالية المستخلص الكحولي حيث كان هناك فروق معنوية عند قيمة ($P<0.05$) بين قيمة log CFU للبيض المعقمة بالمستخلص المائي وبين الشاهد ، وأيضا" بين التراكيز المختلفة للمستخلص عدا التركيزين(15%–10%) لم يكن هناك فرق معنوي . وكانت أعلى قيمة للتثبيط مترافقة مع استخدام المستخلص المائي بتركيز(15%) وأقل قيمة مع التركيز (5%) إن ضعف القدرة المضادة للجراثيم للمستخلص المائي تتوافق مع نتائج الدراسة التي قام بها **العمر عام (2002) ,Al–Ammar MH. 2001)** حيث أكد على فعالية مستخلصات العكبر ضد البكتريا السلبية والإيجابية حيث وجد أن مستخلصات العكبر المائية والكحولية كانت فعالة ضد الجراثيم الإيجابية والسلبية وفعالية المستخلص الكحولي أكثر من المستخلص المائي. إلا أنها اختلفت مع دراسة الباحثان **محمود وعبد الهادي عام (2012). Mahmood, NM., Abdul Hadi, AM. (2012)** حيث تناولت الدراسة تأثير العكبر التركي بمستخلصاته الكحولية والمائية ضد بعض أنواع الجراثيم ووجدا أن المستخلص الكحولي كان فعال ضد كلا نوعي البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام بينما المستخلص المائي لم يكن له تأثير تثبيطي على البكتريا والذي يختلف مع هذه الدراسة وربما يعود ذلك إلى الاختلاف في مصدر العكبر واختلاف طريقة الاستخلاص ، ولعل التفسير لكون فعالية المستخلص الكحولي أكبر من المائي ناتج عن كمية المكونات الفعالة في المستخلص الكحولي نظرا" لقدرة الكحول كمادة محلة على تحطيم وتحرير المكونات الفعالة البيولوجية من العكبر وهذا ما أكده **محسن وزملاؤه عام (1996) (Mahasneh, AM.et al.1996)** كما أكده أيضا" **أونلين وزملاؤه عام (2007) .(Onlen**

Y.et al.2007) على أن المذيبات المستخدمة في حل العكبر على اختلاف أنواعها تؤثر على فعالية العكبر المثبطة للجراثيم.

5- الاستنتاجات:

1. أظهرت الدراسة الأثر المضاد للجراثيم الذي تتميز به مستخلصات العكبر والذي يختلف باختلاف نوع المذيب المستخدم للحصول على المستخلص.
2. أظهرت الدراسة فعالية مستخلصات العكبر الكحولية وتفوقها على المستخلصات المائية في الأثر المضاد للجراثيم.
3. أظهرت النتائج ازدياد الفعالية المضادة للجراثيم للمستخلص الكحولي للعكبر بازدياد تركيز المادة الخام للعكبر.
4. **أثبتت الدراسة كون المستخلص الكحولي للعكبر معقم فعال وقادر على التفوق على الفورم ألدهيد في عملية تطهير البيض.**
5. أظهرت الدراسة فعالية الفورم ألدهيد كمعقم إلا أنه يجب الإشارة إلى تأثيره الضار على صحة العمال.
6. يجب الإشارة إلى تفوق الفورم ألدهيد من الناحية الاقتصادية على العكبر كون الفورم ألدهيد أرخص ثمنا" .

6- المراجع العربية:

1-الاسدي، اخلاص حاتم عبد الامير. (2000). تأثير الكلتين المعزول من بذور الحبة السوداء Nigella sativa في مستوى السكر وكولسترول وبروتينات الدم. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري –جامعة بغداد.

2-ألسلامي، نبراس يحيى عبد الله. (2000). دراسة تأثير مستخلص نباتي الياس .Myrtus communis L والثوم Allium stavium L في بكتريا Pseudomonas رسالة ماجستير –كلية التربية للبنات _جامعة الكوفة.

7- References:

1. **Al-Ammar, MH.,(2001):** Effects of propolis components on some pathogenic bacteria. Master thesis. Kufa University, Iraq,.
2. **Ali,a.,Durmus,s.,(2013):** effect of prestorage application of propolis and storage time on egg shell microbial activity,hatchability, and chick performanc in Japanese equail (coturnix coturnix japonica) eggs,articl in poultry science 92(12):3330-7-december 2013.source:pub med
3. **Anonymous, (1977):** Formaldehyde fumigation of incubators and fumigation chambers. In: Incubation and Hatchary Practice. MAFF Leaflet, 148, 45-47. HMSO, London.
4. **Amoros, M., Lurton. E., Boustie. J.,Gime.L., Savvajer. F. and Cormier. M. (1994):**Comparison of the anti – herpes simplex virus activity of propolis and 3.methyl – but . 2eny l caffeate. Joarnal of Natural products . 57:644-647.
5. **Braswell, J.R., Spiner. D.R., Hoffman, R.K. (1970):** Adsorption of formaldehyde by various surfaces during gaseous decontamination. Appl. Microbiol. 20, 765-769.
6. **Brake .j. and Sheldon. b.w. ,(1990):** effect of aquaternary ammonium sanitizer for hatching eggs on their contamination ,permeability, water loss and hatcability. Poultry sci .69:517-525.

7. **CASTEEL. J.H.VERNON R.J., BAILEY .E.M., JR., (1987)**: Formaldehyde: Toxicology and hazards. Vet. Hum. Toxicol. 20(1), 31-33.
8. **Gomez-Caravaca, A. , Gomez-Romero, M. , Arraez-Roman, D. , Segura-Carretero, A. , and Fernandez-Gutierrez, A. , (2006)**: "Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees," Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, vol. 41, no. 4, pp. 1220–1234,.
9. **GwATKin,R.,(1926)**: some experiment on the disinfection of eggs and incubators
10. **Harborn, G.B.(1984)**:Phytochemical Methods .A guide to modern techniques of plants analysis second Ed. Chapman and hall. London, New York .
11. **Hauptmann,M.,Stewart,P., Lubin, J., Freeman, L., Hornung, R., Herrick, R., Hoover, R., Fraumeni, J., Blair, A., Hayes, R.,(2009)**: Mortality From Lymphohematopoietic Malignancies and Brain Cancer Among Embalmers Exposed to Formaldehyde. *Journal of the National Cancer Institute*, v.101, p.1696-1708, 2009.
12. **Hayretda, S., Kolankaya, D.,(2008)**: Investigation of the Effects of Pre-Incubation Formaldehyde Fumigation on the Tracheal Epithelium of Chicken Embryos and Chicks Turk. *Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v.32, p.263-267, 2008.
13. **Hodgetts,B.,(1994)**:Early deads-AMAJOR source of loos.international. Hatchery practis,8 (5)-1994.
14. **Huang,** S. ., **Zhang, C.-P, , Wang, K., Li, G. Q, and. Hu, F.-L ,(2014)**: "Recent advances in the chemical composition of propolis," Molecules, vol. 19, no. 12, pp. 19610–19632, 2014.
15. **Hugo, W.B., Russell, A.D. , (1992)**: Types of Antimicrobial Agents. In: Principles and Practice of Disinfection ,Preservation and Sterilization, eds. A.D. Russell, W.B. Hugo and G.A.J Ayliffe , 7-88. Blackwell Scientific Publications, LONDON.
16. **Krell, R., (1996)**: Value-added products from beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin No: 124. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
17. **Li, F., Awale, S., Zhang, H., Tezuka, Y., Esumi, H., Kadota, S., (2009)**: Chemical Constituents of Propolis from Myanmar and Their Preferential Cytotoxicity against a Human Pancreatic Cancer Cell Line. Journal of Natural Products, v.72, p.1283-1287, 2009.
18. **Mahasneh, AM., Abbas, JA., El-Oqilah, AA.,(1996)**: Antimicrobial activity of extracts of herbal plants used in the traditional medicine of Bahrain. Plytotherapy Res; 10(3): 253-7.
19. **Mahmood, NM., Abdul Hadi, AM., (2012)**: Effect of water and methanol extracts of turkish propolis against some species of pathogenic bacteria. Iraqi J Comm Med; 3: 210-5
20. **Marcucci, M.C.,(1995)**: Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutical activity. Apidologie, v.26, p.83-99, 1995.

21. **Mauldin, J.M., (2002):** Maintaining hatching egg quality. In: BELL, D.D.; WEAVER, W.D. (Ed.). Commercial chicken meat and egg production. 5. ed. Norwell: Kluwer Academic Publishers, P.705-707.

22. **Miorin, P.L.; Levy Junior, N.C.; Custodio, A.R.; Bretz, W.A.; Marcucci, M.C. (2003):** Antibacterial activity of honey and propolis from Apis mellifera and Tetragonisca angustula against Staphylococcus aureus. Journal of Applied Microbiology, v.95, p.913-920, .

23. **Onlen Y, Duran N, Atik E, Savas L, Altug E, Yakan S, Aslantas O. (2007):**Antibacterial activity of propolis against MRSA and synergism with topical mupirocin. J of Alternative and Complementary Medicine; 13(7) 713-8.

24. **Parekh, J and Chanda. S., (2006):** In vitro antimicrobial activities of extract of Launaea procumbens Rox B. (labiateae). Vitis vinifera L. (Vitaceae). African Journal Biomedical Research. 9: 89–93.

25. **Park, Y.K., Koo, M.H. , Ikegaki, M. and Contado, J.L. , (1997):** Investigation of the flavonoid aglycones of propolis collected by Apis mellifera in Brazil. Arq. Boil. Technol. 40: 97-106.

26. **Pernot, E.F., (1908):** An investigation of the mortality of incubator chicks. Oregon Agricultural College, Experimental Station Bulletin, 103.

27. **Ralph, A., (2002):**Ernst extension poultry specialist:hlatching-egg production"storage and sanitation "poultry fact sheut No.22 cooperative exension un iversity of CALIFORNIA,DQVIS,CA95616-REVISED 2002.

28. **Scott, T.A., Swetnam, C., (1993) A:** Screening sanitizing agents and methods of application for hatching eggs. I. Environmental and user friendliness. J. Appl. Poult. Res. **2**, 1-6.

29. **Usanmaz, SE., Akarsu, ES., Vural, N., (2002):** Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. Envir Toxicol Pharmacol 2002;11:93-100.

30. **Vilela, C.O. , Vargas, G.D. , Fischer, G., Ladeira, S., De Faria, R.O. , Nunes, C.F. , De Lima, M., Hubner, S.O. , Luz1, P. , OSORIO, L.G. , Anciuti, M.A. (2012):** propolis: a natural product as an alternative for disinfection of embryonated eggs for incubation. 1universidade federal de pelotas, laboratório de virologia e imunologia, arq. inst. biol., sao paulo, v.79, n.2, p.161-167, abr./jun., 2012.

31. **Volpi., N. (2004):**"Separation of flavonoids and phenolic acids from propolis by capillary zone electrophoresis," Electrophoresis, vol. 25, no. 12, pp. 1872-1878, 2004.

32. **Whit,f.n.,kinney,j.l.,(1974):**avian incubation.science,186,107-115.