

The inhibitory effect of *Zingiber officinale* extract against some pathogenic bacteria and microbial content of minced beef

دراسة التأثير التثبيطي لمستخلص الزنجبيل *Zingiber officinale* في بعض الجراثيم المرضية ومحتوى اللحم البقري المفروم من الاحياء المجهرية.

زينب عبد علي حسن

قسم علوم الاغذية والتقانات الاحيائية / كلية الزراعة / جامعة البصرة

الخلاصة

تمت دراسة اقطار تثبيط النمو الجرثومي لمستخلص الزنجبيل المائي والكحولي في مزارع نقية لبعض الاحياء المجهرية المرضية *Escherichia coli* و *Klebsiella* و *Staphylococcus aureus* و *Proteus* و *Bacillus cereus* و *Pseudomonas*.

بينت النتائج انمستخلص الزنجبيل الكحولي ذات قابلية تثبيط عالية ضد جميع العزلات وبمعدل اقطار تثبيط اعلى من المستخلص المائي تراوحت بين 7- 16 ملم، كما تمت دراسة تأثير مستخلص الزنجبيل المائي في محتوى اللحم البقري المفروم من العدد الكلي للبكتيريا واعداد كل من بكتريا القولون الكلية والمكورات العنقودية والاعفان والخمائر وقد كانت الفروق معنوية حيث لوحظ ان نسبة التثبيط تزداد بازدياد تركيز المستخلص وعلى نوع الميكروب عند تخزينه لمدة 10 ايام وبدرجة حرارة 4°م .

summary

The antimicrobial activity of the ethyl acetate and water extract of Zinger were studied against 6 pathogenic bacterial species such as *Escherichia coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Bacillus cereus*, *Staph.aureus* and *Pseudomonas* by disc diffusion method .

The results showed that the ethanol extract of Zinger revealed maximum zone of inhibition against all isolates, was also study the effect of water Zinger extract in microbial content of minced beef including Total cont bacteria ,coliform , staphylococci count and molds & yeasts , The results showed that the percentage of inhibition increase with the extract concentration and on the type of microbe when it is stored for 10 days at 4°C .

المقدمة

يعد الزنجبيل *Zingiber officinale*, Roscoe من النباتات الطبية التي تنتمي الى العائلة الزنجبارية Zingeberaceae حيث يستعمل منه السيقان والجذور المدفونة في الارض (الريزومات) ، وهو اصلا من نباتات المناطق الحارة يكثر زراعته في بلاد الهند والصين والفلبين وسريلانكا والمكسيك [1].

يستخدم الزنجبيل على نطاق واسع في جميع انحاء العالم كتوابل لاكساب النكهة وقد عرف في العصور القديمة كعلاج بالاعشاب في الطب اليوناني والصيني لعلاج مجموعة واسعة من الامراض التي تشمل التهاب الفم ووجع الاسنان، التهاب المفاصل والروماتيزم، الام العضلات، عسر الهضم ،، الامساك، التقيؤ، الحمى والامراض المعدية ، الربو، ارتفاع ضغط الدم وامراض الجهاز العصبي [2].

في الوقت الحاضر ازدادت الدراسات على خصائص الزنجبيل الدوائية والمواد الفعالة فيه بازدياد الاقبال على العلاج بالاعشاب حيث وجد انه يحتوي على زيت طيار بنسبة 2.5- 3 % له رائحة نفاذة وطعم لاذع اضافة الى *Geranial*، *Beta-phellandrine*، *Alpha-Franesnr*، *Nerol*، *Zingebrol*، *Linallol*، *Zingibrene* كما يحتوي على مجموعة اخرى تعرف باسم *Aryl Alkanes* واهم مركباتها هو الجينجول *Gingerol* والذي يعزى اليه الطعم الحار [3]، واشارت الدراسات الى ان الجينجول له دور في الوقاية من العدوى بشتى انواعها خصوصا العدوى التنفسية مثل انفلونزا الخنازير وانفلونزا الطيور ويعمل على تنشيط انتاج الانترفيرون المضاد للفيروسات ويحمي الكبد ويقاوم الجراثيم والفطريات [4] ، وتناولت عدة دراسات تأثير الزنجبيل على تركيز الدهون والجلوكوز في الدم وعلاقته بضغط الدم ومعدل ضربات القلب بصورة مباشرة او غير مباشرة [5، 6] ، واجريت عدة دراسات في مجال استخدام مستخلصات النباتات والتوابل في تثبيط البكتيريا وخاصة المرضية ومنها دراسة تأثير كل من

مستخلصات الكزبرة والنعناع والفلل الاحمر والزنجبيل والكمون والفلل الاسود والقرفة (الدارسين) والز عترو القرنفل على البكتريا المرضية الموجبة والسالبة لصبغة كرام [7] ، اضافة الى امكانية استخدام هذه المستخلصات في مجال حفظ الاغذية كبديل عن المواد الحافظة المضرة لصحة الانسان لدورها في تثبيط البكتريا وخاصة المرضية وكذلك المسببة لتلف وفساد الاغذية واعطائها النكهة المرغوبة [8] .

وقد ذكر الله تعالى الزنجبيل في كتابه العزيز بقوله عز وجل "ويسقون فيها كاسا كان مزاجها زنجبيلا". تهدف هذه الدراسة الى مقارنة الفعالية التثبيطية لمستخلص الزنجبيل المائي والكحولي في بعض انواع البكتريا المرضية وكذلك محتوى اللحم البقري المفروم من الاحياء المجهرية .

المواد وطرائق العمل

تحضير مستخلص الزنجبيل المائي والكحولي
تم الحصول على نبات الزنجبيل الطازج من الاسواق المحلية وجفف وطحن بصورة جيدة باستخدام طاحونة كهربائية نوع Molinex، حضر المستخلص المائي باضافة 20 غم من مسحوق الزنجبيل الى 200 مل ماء مقطر معقم واجري الاستخلاص في درجة حرارة الغليان لمدة ساعة واحدة ومن ثم رشح المستخلص باستخدام ورق الترشيح Whatman ذو ثقوب بقطر 0.45 مايكرومتر واجري الطرد المركزي (3000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق) ، اما المستخلص الكحولي حضر باضافة 10 غم من مسحوق الزنجبيل الى 150 مل كحول ايثيلي بتركيز 95% واجري الاستخلاص بجهاز Soxhlet لمدة 24 ساعة ثم ركز الراشح بجهاز المبخر الدوار Rotary vacuum evaporator وكانت التراكيز النهائية 10 و 100 و 500 و 1000 مايكروغرام/ مل [9، 10].

المزارع الجرثومية

تم الحصول على المزارع الجرثومية النقية من مختبرات قسم الاحياء المجهرية/كلية الطب/جامعة البصرة وهذه المزارع هي:

Pseudomonas ، *Staph.aureus* ، *Bacillus cereus* ، *Klebsiella* ، *Proteus* ، *Escherichia coli*

نشطت هذه الجراثيم في درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة.

تقدير الفعالية التضادية للزنجبيل

تم قياس اقطار مناطق تثبيط النمو الجرثومي Growth inhibition zone بطريقة الاطباق Plate (Agar diffusion) method لتقدير الفعالية التضادية لمستخلص الزنجبيل ، حيث نشر 0.1 مل من معلق المزرعة الجرثومية بعمر (18-24) ساعة والمنمأة في وسط نقيع (Brain Heart infusion broth) القلب والدماغ على وسط اغار مولر- هنتون Muller-Hinton agar بحيث يكون عدد الخلايا الجرثومية في هذه المرحلة 10⁸-10¹⁰ خلية/ مل ولكل نوع جرثومي على حدة وتركب الاطباق 30 دقيقة لتجف ، تم عمل حفرة بقطر 8 ملم لكل حفرة باستعمال ثاقب معدني معقم وبواقع اربع حفر لكل طبق واضيف 100 مايكرو لتر من المستخلص باستعمال Micropipette كما حضرت اطباق سيطرة (control) تحوي الوسط الغذائي فقط ، الوسط الغذائي مع المستخلص والوسط الغذائي مع الجراثيم، حضنت بعدها الاطباق بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة ، تم بعدها قياس اقطار مناطق التثبيط وكما موضح في الجدول رقم 1 [11].

واستخدمت تراكيز مستخلص الزنجبيل المائي مع اللحم البقري المثلث على درجة حرارة التلاجة 4°م لفترة خزن 10 أيام قدرت خلالها اعداد كل من العدد الكلي للبكتريا TPC وبكتريا القولون الكلية TC و العنقوديات الذهبية *Staph. aureus* و اعداد الخمائر والاعفان باستخدام الاوساط Nutrient agar و MacConkey agar و *Staph* 110 Malt and yeast agar على التوالي ، واجري التحليل الاحصائي اعتمادا على [12].

النتائج والمناقشة

يبين الجدول رقم (1) الفعالية التثبيطية لمستخلص الزنجبيل المائي والكحولي ضد المزارع الجرثومية الاختبارية ، حيث تفوق المستخلص الكحولي على المستخلص المائي وبجميع التراكيز وبنسب متفاوتة، حيث تراوحت اقطار مناطق التثبيط للمستخلص الكحولي بين (7- 16) ملم ، وهو يتفق مع ما اشار اليه [13] الى ان المستخلصات الكحولية ذات قابلية تثبيطية عالية مقارنة مع بقية المستخلصات.

ويلاحظ من الجدول رقم (1) عدم وجود فعالية لمستخلص الزنجبيل المائي عند التركيز 10 والتركيز 100 مايكروغرام/ مل تجاه العزلات ولجميع التراكيز بالنسبة للعزلة *Pseudomonas* ، في حين اظهر المستخلص المائي عند التركيز 500 مايكروغرام/ مل فعالية تثبيطية عالية للعزلة *E.coli* بمعدل قطر تثبيط 8 ملم ، اما العزلتان *Staph.aureus* و *Klebsiella* فكان معدل قطر التثبيط لهما 6 ملم ، ثم العزلتان *Proteus* و *Bacillus cereus* بمعدل قطر تثبيط 4 و 5 ملم على التوالي و اظهر المستخلص المائي بتركيز 1000 مايكروغرام/ مل

فعالية تثبيطية عالية تجاه العزلات واتفقت هذه النتائج مع مابينه [14] لتأثير مستخلص الزنجبيل المائي على بعض انواع من البكتريا المرضية.

جدول (1) تأثير مستخلص الزنجبيل على الانواع الجرثومية

قطر منطقة التثبيط (ملم) في تركيز المستخلص المعين (مايكروغرام/مل)

المستخلص الكحولي				المستخلص المائي				النوع الجرثومي
1000	500	100	10	1000	500	100	10	
13	11	10	8	10	8	—	—	<i>E.coli</i>
16	14	11	9	8	6	—	—	<i>Staph.aureus</i>
12	10	9	7	7	6	—	—	<i>Klebsiella</i>
9	8	7	7	—	—	—	—	<i>Pseudomonas</i>
15	10	8	7	9	4	—	—	<i>Proteus</i>
14	13	10	8	9	5	—	—	<i>Bacillus cereus</i>

الارقام في الجدول هي معدل لثلاث مكررات .

اما مستخلص الزنجبيل الكحولي فيبين الجدول رقم (1) ان الفعالية التثبيطية له كانت اعلى ضد جميع العزلات الموجبة والسالبة لصبغة كرام ويتفق هذا مع ما اشار له [15] في تأثير مستخلص الزنجبيل الكحولي على البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام وعلى الفطريات ، وكان اعلى معدل قطر تثبيط 16 ملم للعزلة *Staph.aureus* في حين كان معدل قطر التثبيط للعزلة *E.coli* هو 13 ملم بتركيز 1000 مايكروغرام/مل ويعزى ذلك الى احتواء خلية الشريشيات على نسبة دهون عالية والتي تعد موانع الية فيزيائية طبيعية لدخول المركبات المثبطة الموجودة في المستخلص [16] .

وتوضح النتائج في الجدول رقم (2) اختلاف تأثير التراكيز ونوع الميكروبات وفترة الخزن وكان التأثير معنوياً حيث ازداد العدد الكلي للبكتريا وعدد بكتريا القولون والمكورات العنقودية واعداد الخمائر والاعفان في اليوم الثالث من فترة الخزن واستمر لغاية نهاية فترة الانضاج لعينات اللحم غير المعامل وذلك لتوفر الظروف الملائمة لنمو الاحياء المجهرية [17] .

اما بالنسبة الى عينات اللحم المضاف اليها مستخلص الزنجبيل فقد وجد ان قابلية التثبيط للمستخلص ازدادت بزيادة التركيز وعلى نوع الميكروب وقد تأثرت جميع العزلات بنسب متفاوتة وكان تأثير بكتريا المكورات العنقودية واضحاً في التراكيز الاولى والعالية لكونها من البكتريا المحبة للحرارة المعتدلة وعدم ملائمة درجة حرارة 4°م

جدول (2) تأثير التراكيز المختلفة لمستخلص الزنجبيل المائي في المحتوى الميكروبي للحوم الابقار المفرومة والمخزنة في درجة حرارة الثلاجة 4°م

		(تركيز مستخلص الزنجبيل) (مايكروغرام/مل)						الاختبار
LSD	mean	1000	500	100	10	0	فترة لخزن	الميكروبيولوجي
136505.2	80780	900	3000	90000	110000	200000	2	T.P.C
	182000	1000	9000	30000	70000	800000	4	
	892590	1450	9500	52000	900000	3500000	7	
	10607580	900	7000	30000	8000000	45000000	10	
	2940737	1062.5	7125	50500	2270000	12375000	mean LSD= 1918042.1	
26834.6	1330	100	700	1150	1700	3000	2	T.C
	2480	150	950	2400	3900	5000	4	
	9030	160	990	5000	33000	33000	7	
	38794	970	5000	38000	90000	90000	10	
	12908.5	345	1910	11637.5	17900	32750	mean LSD= 5352.2	
29019.7	733	65	120	980	1000	1500	2	Staph.
	1174.6	93	680	1000	1600	2500	4	
	21376	280	2600	29000	45000	30000	7	
	37558	790	3000	39000	95000	50000	10	
	15210.4	307	1600	17495	35650	21000	mean LSD= 3642.0	
19573.3	1770	360	990	1000	2500	4000	2	M & Y
	2793	375	890	1500	4500	670	4	
	31760	1000	9800	18000	37000	93000	7	
	53940	1200	3500	65000	90000	110000	10	
LSD= 37359.1	22565.75	733.75	3795	21375	33500	53425	mean LSD= 5102.3	

الارقام في الجدول هي معدل الاعداد البكتيرية (خلية/غم) لثلاث مكررات .
 TPC (Total Plate Count) العدد الاول للعدد الكلي للبكتريا 99000 خلية /غم
 T.C. (Total Coliform) العدد الاول لبكتريا القولون 1000 خلية /غم
 Staph. (Staphylococci) العدد الاول للمكورات العنقودية 960 خلية /غم
 M.Y. (Mold & Yeast) العدد الاول للخمائر والاعفان 1500 خلية /غم

لنموها [18]، اما القولونيات الكلية فقد تاثرت بشكل واضح في التراكيز العالية وذلك لانها تكون مقاومة للمستخلصات عندما تكون الخلايا في دور النمو [19] ، في حين ان الخمائر والاعفان ازدادت نسبة تثبيطها مع استمرار التخزين لكونها تحتاج الى فترة حضان اطول ، من هذا يتضح ان للمستخلصات النباتية فعالية تثبيطية ضد الاحياء المجهرية ويعود السبب الى وجود الزيوت والمركبات الكيميائية الفعالة في هذه المستخلصات ،ومنها تداخل المركبات الفينولية مع التفاعلات الايضية وتخليق الحامض النووي وبالتالي موت الخلايا ، او تاثير المجاميع الفعالة

في المستخلص كالجنگرول Gingerol و Nerol على المكونات الخلوية و تثبيطها لواحد او اكثر من التفاعلات البايوكيميائية كمنع الانتقال الالكتروني وتغيير مواقع البروتين الضرورية لنمو وتكاثر الاحياء المجهرية [20].

المصادر

- [1] Wang, W.H., Wang ,Z.M.(2005).Studies of commonly used traditional medicine-Ginger. Zhongguo Zhong YaoZazhi.30,1569-1573.
- [2] Tapsell,L.C.,Hemphill,I.,Cobiack,L.(2006).Health benefits of herbs and spices :the past,the present,the future, Med.J.Aust.185 (suppl.4),S4-S24.
- [3]Jolade,S.D.,Lantz,R.C.,Solyon,A.M.,Chen,G.J.,Bates,R.B.,Timmermann,B.N.(2004).Fresh organically grown Ginger.composition and effect on LPS-inducedPGE2 production.phytochemistry, 65, 1937-1954
- [4] Shukla ,Y., Singh,M.(2007).Cancer preventive properties of Ginger:abrief review.Food Chem . Toxicol.54,683-690.
- [5] Afzal, M.,A.L.Hadidi,D.,Menon,M.,Pesek,J.,Dhami,M.S.(2001).Ginger: an ethnomedical, Chemical and pharmacological review .Drug Metab .Drug Interact.18,159-190.
- [6] Goyal,R., Kadnur,S.V. (2008).Benefical effect of Zinger officinale on gold thio glucose induced obesity.Fitoterapia, 77,160-163.
- [7] Keskin,D.,Toroglu,S.(2011).Studies on antimicrobial activities of solvent extract of different spices.EnvIRON.Biol.J.,32,251-256.
- [8] Rangan,C., Barceloux,D.G.(2009).Food additives and sensitive .Dis.Mon.,55,292-311.
- [9] حسين ، فوزي طه قطب (1981) . النباتات الطبية ، زراعتها ومكوناتها ، دار المريخ للنشر ، الرياض .
- [10] Alzoreky,N.S. , Nakahara,k.(2003).Antibacterial activity of extract from some edible plants commonly consumed in Asia.Int .J . Food Microbial,80,223-230.
- [11]Murray,P.R.,E.J.Baron,M.A.,Pfaller,F.C.(2007).Manual of clinic Microbiology .9thEdn. , American Society Microbiology, Lonsdon , ISBN-101555811264.
- [12] Mirabella,J.(2011).Statistical analysis with SPSS/PASW,Anon statisticians guide &tutorial SPSS Inc.
- [13] Eloff,J.N.(1998).Which extract should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants.J.Ethnopharmacol.,60:1-8.
- [14] Sunilson ,J.A.J., Muthappan. M., Das., Suraj, A.R., Varathrajan , R ., Promwichit, P. (2009). Hepatoprotective activity of Coccinia- grandis leaves against carbon tetrachloride induced hepatic injury in rats.Int.J.Pharmacol.,5:222-227.
- [15] Konning ,G.H.,Agyare,c.,Ennison,B.(2004).Antimicrobial activity of some medical plants from Ghana.Fitoterapia,75,65-67.
- [16] Anthony,H.R. (1976).Chemical Microbiology.An Introduction to Microbial physiology. 3rd (ed) Butterworth and Co (published) Ltd.,London.
- [17] Keller ,J.K.,Skelley ,G.C.and Acton,J.c.(1974).Effect of meat particle size and casing diameter on summer sausage properties during drying .J.Food Technol .37:101.
- [18]Samishema,T.,Magome,C.,Takeshita,K.,Arihara,K.,Itoh,M.,Kondo,Y.(1998). Effect of intestinal Lactobacillus on the behaviour of *Staph.aureus* in fermented sausage .Int.J.Food Microbial.41:1-7.
- [19] Tynecha,Zofia.Szymona,Alga (1973).The effect of certain SH-group inhibitors on the growth and respiration of *Staphylococcus* strains,Ann.Univ.Mariae Curie Sklodowska,Vol.27:59.
- [20] Hinou,J.B.Harvala,C.E.and Hinou,E.B.(1989). Antimicrobial activity screening of 32 common constituents of essential oils . *pharmazie* 44,H4.