The inhibitory effect of *Zingiber officinale* extract against some pathogenic bacteria andmicrobial content of minced beaf

دراسة التاثير 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 مناطق تثبيط النموالجرثومي لمستخلص الزنجبيل المائي والكحولي في مزارع نقية لبعض الاحياء المجهرية المرضية *Escherichia coli* و*Klebsiella* و*Staphylococcus aureus* و*Proteus* و *Pseudomonas*و*Bacillus cereus*.

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 تاثير مستخلص الزنجبيل المائي في محتوى اللحم البقري المفروم من العدد الكلي للبكتريا 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 beaf 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 Zingeberacae 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 كما Geranial،Beta-phellandrine،Alpha-Franesnr،Nerol،Zingebrol،Linallol،Zingibrene يحتوي على مجموعة اخرى تعرف بأسم Aryl Alkanes واهم مركباتها هوالجنجرول Gingerol والذي يعزى اليه الطعم الحار[3]، واشارت الدراسات الى ان الجنجرول له دور في الوقاية من العدوى بشتى انواعها خصوصا العدوى التنفسية مثل انفلونزا الخنازير وانفلونزا الطيور و يعمل على تنشيط انتاج الانترفيرون المضاد للفيروسات ويحمي الكبد ويقاوم الجراثيم والفطريات [4] ، وتناولت عدة دراسات تاثير الزنجبيل على تركيزالدهون 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 البكتريا وخاصة المرضية ومنها دراسة تاثير كل من

مستخلصات الكزبرة والنعناع والفلفل الاحمر والزنجبيل والكمون والفلفل الاسود والقرفة (الدارسين) والزعتروالقرنفل 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 20غم 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 مايكروميتر واجري الطرد المركزي (3000 دورة/ دقيقة لمدة 10 دقائق) ،اما المستخلص الكحولي حضرباضافة 10غم من مسحوق الزنجبيل الى 150مل كحول اثيلي بتركيز 95% واجري الاستخلاص بجهاز Soxhelet لمدة 24ساعة ثم ركز الراشح بجهاز المبخر الدوار Rotary vacuum evaporator وكانت التراكيز النهائية 10 و100 و500 و1000 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 النموالجرثومي 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 والمنماة 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 10-10خلية/ مل ولكل نوع جرثومي على حدة وتركت الاطباق 30 دقيقة لتجف ، تم عمل حفربقطر 8 ملم لكل حفرة باستعمال ثاقب معدني معقم وبواقع اربع حفر لكل طبق واضيف 100 مايكرولتر من المستخلص باستعمال Micopipette 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 24ساعة ، تم بعدها قياس اقطار مناطق التثبيط وكما موضح في الجدول رقم 1 [11].

واستخدمت تراكيز مستخلص الزنجبيل المائي مع اللحم البقري المثروم على درجة حرارة الثلاجة 4°م لفترة خزن 10أيام قدرت خلالها اعداد كل من العدد الكلي للبكتريا TPC وبكتريا القولون الكلية TC و العنقوديات الذهبية *Staph. aureus* واعداد الخمائر والاعفان باستخدام الاوساط Nutrient agarو MacConkey agar و Staph 110 وMalt 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 ماشار 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 والتركيز100 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 التثبيت لهما 6 ملم ، ثم العزلتان *Proteus* و *Bacillus cereus* بمعدل قطر تثبيت 4 و 5 ملم على التوالي واظهر المستخلص المائي بتركيز 1000مايكروغرام/ مل

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

جدول (1) تاثير مستخلص الزنجبيل على الانواع الجرثومية
قطر منطقة التثبيط (ملم) في تركيز المستخلص المعين (مايكروغرام/مل)

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

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 ماشار له [15] في تاثير 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 13ملم 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 تاثير التراكيز ونوع الميكروبات وفترة الخزن وكان التاثير معنويا 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 لتوفرالظروف 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 تاثرت جميع العزلات بنسب متفاوتة وكان تاثر بكتريا المكورات العنقودية واضحا في التراكيز الاولية والعالية لكونها من البكتريا المحبة للحرارة المعتدلة وعدم ملائمة درجة حرارة 4°م

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

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

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

فـي المسـتخلص كـالجنجرول Gingerol وNerol علـى المكونـات الخلويـة و تثبيطهـا لواحـد او اكثـر مـن التفـاعلات 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.,Cobiac,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 organi- cally grown Ginger.composision and effect on LPS-indusedPGE2 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, Chem- ical and pharmacological review .Drug Metab .Drug Interact.18,159-190.

[6] Goyal,R., Kadnur,S.V. (2008).Benefical effect of Zinger officin- ale 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 sense- tive .Dis.Mon.,55,292-311.

[9] حسين ، فوزي طه قطب (1981) . النباتات الطبية ، زراعتها و مكوناتها ، دار المريخ للنشر ، الرياض .

[10] Alzoreky,N.S. , Nakahara,k.(2003).Antibacerial activity of extract from some edibl 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. , Amer- ican Society Microbiology, Lonsdon , ISBN-101555811264.

[12] Mirabella,J.(2011).Statical analysis with SPSS/PASW,Anon statistians guide &tutorial SPSS Inc.

[13] Eloff,J.N.(1998).Which extract should be used for the screening and isolation of antimicro- bia l 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 include hepaticinjury 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 susage 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 behavour of *Staph.aureus* in fermented susage .Int.J.Food Microbial.41:1-7. [19] Tynecha,Zofia.Szymona,Alga (1973).The effect of certain SH-group inhibators on the growth and respiration of Staphy loco -ccus 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.