

دراسة تأثير الخلاصة الكحولية لنبات الزنجبيل علي بكتيريا *Staphylococcus Aureus* و *Bacillus Cereus* ، وتقدير تراكيز بعض العناصر الثقيله في

هذا النبات

هند اسماعيل المبروك - قسم الادوية، كلية التقنية الطبية - مصراتة

أسماء عاشور العجيلي - قسم العلوم الطبية، كلية طب الاسنان جامعة الجبل الغربي- غريان

ناديه عبدالله الطاهر - قسم الادوية، كلية الطب جامعة الجبل الغربي- غريان

الملخص Abstract

تم اختبار الفعالية التثبيطية للمستخلص الكحولي الايثانولي لنبات الزنجبيل بتراكيز (30، 50، 100) % علي نوعين من البكتريا المرضية هي *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus cereus*، بعد الحضانة لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 37°م حيث أظهر المستخلص الكحولي فعالية تثبيطية ملحوظة ضد نوعين من البكتيريا قيد الدراسة وقد تزايدت الفعالية بزيادة تركيز المستخلص حيث تراوح قطر منطقه التثبيط ما بين 9-15 ملم. كما قد تم تقدير تراكيز بعض العناصر الثقيلة لنبات الزنجبيل بواسطة الامتصاص الذري اللهي، حيث سجلت العناصر الثقيلة تراكيز مختلفة بلغت نسبتها (0.65، 0.61، 14.83، 93.33، 41) لكل من العناصر (الرصاص، الكاديوم، النحاس، الحديد، الخارصين) علي التوالي. وقد بينت الدراسة أن تراكيز جميع العناصر الثقيلة هي من ضمن الحدود المسموحه بها عالميا ماعدا عنصر الكاديوم.

الكلمات المفتاحية : الزنجبيل - الفعالية التثبيطية - العناصر الثقيلة - الامتصاص الذري.

المقدمة Introduction

النباتات الطبية برغم من التطور الهائل في العلم الا أنها أثبتت مكانة مرموقة كمصدر أساسي للكثير من العقاقير الطبية حيث تحوي مستخلصاتها المختلفة على مواد فاعلة جداً تستخدم على نطاق واسع جداً في تطوير مختلف العقارات التي حلت بديلاً ناجحاً جداً عن العقارات الكيماوية [1]. يسمى الزنجبيل باللغة الانجليزية *Ginger* أو *Zingiber* مشتق من كلمة زنجبيل العربية، رتبة *Zingiberales* جنس *Zingiber* [2]. والزنجبيل هو عبارة عن ريزومات تنمو تحت

الأرض، وهو مصدر غني بمضادات الأكسدة ويعتبر من مضادات الجراثيم والفيروسات والبكتيريا، وكذلك يعتبر من أقوى مضادات الالتهابات بكل أنواعها، باختصار فإن الزنجبيل يستعمل في أكثر من 40 نوع من العلاجات المختلفة [3]، ويعالج أمراض الربو والامساك والتوتر والقلق والشقيقة، كما يساهم في توسيع الأوعية الدموية وتنشيط الدورة الدموية وتقوية عضلة القلب، ويستخدم لعلاج بحة الصوت ولتطهير الحنجرة والقصبه الهوائية وطرده البلغم وتخفيف السعال، و تهدئة الأمعاء وإزالة الإمساك و التقليل من اضطرابات الجهاز الهضمي [4]، وقد لوحظ من دراسات سابقة أن مستخلص الزنجبيل أعطى مناطق تثبيط تختلف من تركيز لأخر تبدأ من 10 الى 35 ملم لنوعين من البكتيريا الممرضة هما *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus pyogenes* وذلك من خلال اختبارها مع عدة تراكيز علي النحو التالي (20، 40، 60، 80، 100 ملجم / 100مل ماء أو ايثانول [5].

في دراسة اخري سنة (2011) أكدت على فعالية خلاصة نبات الزنجبيل من خلال تحضير اقراص من ورق الترشيح المشبع بخلاصة الزنجبيل الإيثانولية والميثانولية ووضعها على الاطباق المزروعة بالبكتيريا المراد معرفة تأثير الزنجبيل عليها من ضمنها بكتيريا *Staphylococcus Aureus*, *Bacillus subtilis* وقد أعطت منطقة تثبيط قطرها 13.66 ملم مع بكتيريا *Staphylococcus Aureus*، و 14.00 ملم مع بكتيريا *Bacillus subtilis* [6]. من جانب آخر وجد دراسه المستخلص الايتانولي لنبات الزنجبيل فعاليه مضاده للبكتريا الموجبه والسالبه لصبغه الجرام *Staphylococcus Aureus* حيث أظهرت النتائج أن المستخلص الكحولي حقق أعلى قطر تثبيط 23 ملم مع بكتيريا *Staphylococcus Aureus* و 24 ملم مع بكتيريا *Enterococcus faecalis* وهذا قد يرجع إلى نوعية وكمية المواد الفعالة المتحررة والمذابة في الايتانول والتي كان لها الدور في تحقيق أقطار تثبيطه حيث يعد الايتانول مذيب جيد في استخلاص هذه المواد [7].

نظرا لفائدة هذه المستخلصات من نبات الزنجبيل وفوائدها الطبية فقد ركزنا علي معرفة مدي ثلوث هذا النبات بالعناصر الثقيلة قبل البدء في استخلاصها ومعرفة مدي قدرتها الشببية علي نوعين من البكتيريا السابق ذكرها حيث يعتبر التلوث بالمعادن الثقيلة إحدى صور التلوث البيئي الناتج من نشاط الإنسان الصناعي او الزراعي، وفي السنوات الأخيرة اهتم العلماء بدراسة العناصر الثقيلة من ناحية تواجدها في

البيئة وتأثيراتها البيولوجية وعلاقة ذلك بصحة الإنسان ويعتبر الغذاء احد المصادر الأساسية لتعرض الإنسان لهذه العناصر لذا اهتمت دراسات عديدة باستحداث الطرق الملائمة لتحديد مدى تلوث الغذاء بهذه العناصر ومدى ملائمتها للاستخدام الآدمي [8] [9]، وتحديد الحد الأدنى أو التركيز الحرج المسموح به من هذه الملوثات في الغذاء بدون ان يحدث أضرار [10].

وتعد العناصر الثقيلة الرصاص والكروم والكاديوم والزنك من أهم ملوثات البيئة وأكثرها انتشارا [11]، وتكمن مشكلة العناصر الثقيلة في ميلها للتراكم في أعضاء الإنسان بمرور الوقت ويؤدي وجود هذه العناصر الي حدوث مشاكل كبيرة حيث يؤدي عنصر الرصاص الي زيادة ضغط الدم وتلف الكبد والدماغ والجهاز العصبي المركزي أما بالنسبة للكاديوم فله تأثير في الوظيفة الكلوية والرتين والعظام [12] [13]، كما أن هناك عناصر أخرى كالنحاس والحديد والزنك ضرورية للصحة والحياه ويمكن أن تكون سامة اذ تعرض الانسان الي نسب عالية منها. ولقد أوضحت العديد من الدراسات أن معادن الرصاص و الكاديوم والكروم والنيكل والزنك والنحاس تصل لتركيزات سامة في الأراضي المعرضة للتلوث [14]. إن تركيز العناصر النادرة والثقيلة منها في النباتات ما هو إلا نتيجة تداخلات معقدة لعدد من العوامل منها مثلاً خصائص التربة، التأثيرات المتبادلة بين العناصر، الممارسات العملية الزراعية، التلوث البيئي، العوامل الوراثية للنبات [15].

هدف الدراسة The aim of study

- 1- إختبار تأثير مستخلص نبات الزنجبيل في تثبيط نمو نوعي من البكتيريا المعزولة *Bacillus cereus* و *Staphylococcus Aureus* في تراكيز وفترات مختلفة للحصول علي أفضل تثبيط لنمو البكتيريا.
- 2- تقدير بعض العناصر الثقيلة ومقارنتها بالتراكيز المسموح بها في المواصفات القياسيه والمعايير الدوليه.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

الأجهزة المستخدمة Instrumentation

تم استخلاص الزنجبيل وتجفيفه باستخدام جهاز السوكسلت Soxhlet Extractor موديل Heizplatte RK501.1 و جهاز المبخر الدور Rotary Evaporator Bibby Sterilin LTD, Stone, Staffordshire. ST15, موديل Vaccum OSA, UK في معمل الأبحاث في كلية التقنية الطبية مصراة، كما تم تقدير العناصر المعدنية الثقيلة باستخدام جهاز الامتصاص الذري من نوع (Hitachi 180-30 Atomic Absorption Spectrometer (AAS) الخاص بالشركة الليبية للحديد والصلب، بهدف تحديد نوع العناصر الثقيلة المتواجدة بالعينة التي تحت الدراسة.

جمع النبات Plant collection

تم الحصول علي الزنجبيل من السوق المحلي بمدينه مصراة حيث غسلت جيدا بالماء وجففت في درجة حرارة الغرفة 25 درجة مئوية لمدة أربعة أسابيع بعدها طحنها بمطحنة كهربائية وحفظها في قنينة زجاجية لحين أستعمالها.

تحضير المستخلص الكحولي Preparation of alcohol extract

تم وزن 20 جم من مسحوق الزنجبيل بواسطة الميزان الحساس ثم أذيب في 200 مل من الإيثانول 96% ووضع في جهاز السوكسلت لمدة 24 ساعة بعدها رشح المزيج باستخدام قمع بوجنر تحت الضغط الفراغي وجمع الراشح وركز بالجهاز المبخر الدور في درجة حرارة 50° م الي أن تم تبخير كميته معينه من الكحول وجمعها وبعدها وضع المركز في أطباق بتري ذات مساحه سطحه كبيره ثم ترك ليحجف في درجة حرارة الغرفة للحصول على مسحوق من المستخلص الكحولي، بعدها تم تحضير التراكيز الاتية من هذا المستخلص (30، 50، 100)%.

العزلات المستخدمة The Isolates used

العينات البكتيرية تم الحصول عليها من مختبر كلية التقنية الطبية ومختبر المجد لتحاليل الطبية- مصراة وهي عينات بكتيريا Staphylococcus Arueus، وتم الحصول على بكتيريا cereus Bacillus من داخل الكلية لسهولة تواجدها في التربة. استخدمت طريقة الانتشار بالاقراص لملاحظه تأثير المستخلص علي نمو البكتيريا المعزولة قيد الدراسة وباستعمال وسط مولر هنتون

Muller Hinton agar وإضافة قرص من المستخلص الكحولي وقرص لمجموعة السيطرة لكل طبق زرعي ووضعت في حاضنة بدرجة حراره 37 درجة مئوية ولمده 18- 24 ساعة بعد ذلك تم فحص الاطباق وقياس قطر منطقة التثبيط [16] .

تقدير تراكيز العناصر الثقيله **Estimation of concentrations of heavy metals**

تم هضم العينة بطريقة الهضم الرطب الجاف [17]، اخذ ثلاث مكررات من العينة المطحونة وتم وزن 0.5 جرام منها في دورق دائري سعته 150 مل ووضعت بالفرن لمدة ساعتين عند درجة حراره 70 درجة مئوية وبعد ذلك سحبت العينة وتركت لتبرد، ومن ثم تمت اضافة 10مل من حمض النيتريك المركز وتترك العينة لمدة ساعة بدون تسخين بعد انتهاء الساعة توضع علي سخان كهربائي (Hot plate) عند درجة حراره 50 درجة مئوية حتي تم عملية الهضم (ويتم ذلك بأن تكون حاله العينة بشكل رائق)، ثم تبخر العينة عند نفس درجة الحراره حتي يصل حجم العينة الي 2 مل وتترك حتي تبرد وبعدها يتم ترشيح العينة باستخدام ورق ترشيح نوع (whatman) رقم (6) وباستخدام دوارق حجمية سعة 25 مل ونكمل الحجم حتي العلامة باضافة الماء منزوع الايونات.

النتائج والمناقشه **Results and Discussion**

أشارت النتائج التي تحصلنا عليها بتأثير خلاصة الزنجبيل الأيتانولية على بكتيريا *Bacillus cereus*, *Staphylococcus arueus*، حيث أظهرت بكتيريا *Bacillus cereus* منطقة تثبيط قطرها 10ملم مع تركيز 30% و 12ملم مع تركيز 50% و 15ملم مع تركيز 100% وبكتيريا *Staphylococcus arueus* أظهرت منطقة تثبيط 9ملم مع تركيز 30% و 10ملم مع تركيز 50% و 13ملم مع تركيز 100% كما هو موضح بالجدول (1).

جدول 1: يوضح فعالية المستخلص الكحولي للزنجبيل علي بكتيري *Cereus* و *Staphylococcus arueus* و *Bacillus*

نوع البكتيريا	قطر منطقه التثبيط (ملم)		
	(30 %)	(50 %)	(100 %)
Bacillus	10	12	15
Cereus			
staphylococcus	9	10	13
arueus			

من خلال النتائج المبينة في (الجدول 1) يتضح أن الخلاصات الكحولية لنبات الزنجبيل لها خصائص مثبطة على كل من بكتيريا *Staphylococcus arueus*, *Bacillus cereus* وهذا يتفق مع الدراسات السابقة [5] [6] [7]، اذ بلغ قطر منطقة التثبيط للمستخلص الكحولي 15ملم وذلك لأن نبات الزنجبيل غني بالمركبات الكيميائية الفعالة حيث يحتوي على مليقارب 400 مركب من المركبات المختلفة وهي خليط من الزيوت الطيارة والاحماض الأمينية والعضويه والفيتامينات [18] [19]. الي أن تأثير هذه المستخلصات يعتمد على التركيز المستخدم. كما أن المستخلصات التي تحوي علي مواد فعالة ذات أوازن جزيئية قليلة تكون ذات تاثير تثبيطي أكثر. ولربما كان التفاوت في التركيز المثبط الادبي معتمدا على المكونات الفعالة للزنجبيل من حيث طريقة الاستخلاص ونوع المذيب [20] [21] وقد تعود الفاعليه العاليه لمستخلصات الزنجبيل الي احتواء ريزوماته على كيتونات مثل *Paradole* و *Gingerol* وغيرها.

من جانب آخر قدرت تراكيز بعض العناصر الثقيله (الرصاص، الكاديوم، النحاس، الحديد، الحارصين) في نبات الزنجبيل بطريقة الامتصاص الذري اذ تشير النتائج المعروضة في (الجدول 2) الي احتوائها علي تراكيز متباينة من العناصر الثقيله مقاسة بوحدات ملغم-كغم - نبات مجفف لكل من العناصر قيد الدراسة، وقد قورنت تراكيز العناصر بالحدود المسموحة بها.

جدول 2: يوضح نتائج تقدير تركيز العناصر الثقيلة بوحدة (ملغم-كغم - نبات مجفف) في مسحوق نبات الزنجبيل

العناصر	Zn	Fe	Cu	Cd	Pb
التركيز	41	93.33	14.83	0.61	0.65

وقد بينت النتائج أن تركيز هذه العناصر هي ضمن الحدود المسموحة علي مقياس منظمة الصحة العالمية ماعدا الكاديوم فقد كانت نسبته مرتفعة مقارنة بالنسبة المسموح بها والذي بلغت قيمته الي (0.61)، حيث نسبة الكاديوم المسموح بها في الزنجبيل (0.2 ملجم/ كيلوجرام). وقد يرجع السبب في ارتفاع تركيز الكاديوم الي المواد الكيميائية كالاسمده والمبيدات المستخدمة في الزراعة أوالهواء الجوي أو مياه الصرف الصحي والذي تتفق مع الدراسة التي أجراها Chizzala 2003 [22].

الاستنتاج Conclusion

تناولت هذه الدراسة النشاط الفعال والمضاد لنمو البكتيريا لمستخلص الأيثانولي لنبات الزنجبيل، حيث خضعت لهذه الدراسة نوعين من البكتيريا الممرضة وهي *Bacillus Cereus* و *Staphylococcus arueus* ، وتم اختبار فعالية الزنجبيل عن طريق وضع أقراص مشبعة بالمستخلص الايثانولي على اطباق بتري كما سبق شرحه، وكان تأثير مستخلص الزنجبيل الأيثانولي على بكتيريا *Staphylococcus arueus* مناطق تثبيط أقطارها 9، 10، 13 ملم، وعلي بكتيريا *Bacillus Cereus* هي 10، 12، 15 ملم، وهذه الفاعلية ترجع للمواد الطبيعية العضوية الموجودة في النباتات الطبية والعطرية وحتى النباتات السامة والى مكوناتها من الزيوت الطيارة وجلالاكوسيدات وفلافونيدات وراتنجات. حيث تناولت هذه الدراسة أيضا تراكيز العناصر الثقيلة (الرصاص، الكاديوم، النحاس، الحديد، الخالصين) علي نبات الزنجبيل وتبين وجود زياده في عنصر الكاديوم عن الحد الاعلي (0.2 ميكروجرام / جرام) المسموح به من منظمة الصحة العالمية.

المراجع References

1. Jimenez-Medina. (2006). A new extract of the plant calendula officinalis produces a dual invitro effect: cyto and toxic anti-tumor activity and lymphocyte activation. BMC. Cancer, 6: 119-132.
2. Awang D.V (1982). Ginger, Canadian Pharmaceutical. J; 125
3. Platel K, [Srinivasan K](#) (2000). Influence of dietary spices and their active principle on pancreatic digestive enzymes in albino rats. Nahrung, 1: 42-46.
4. Akoachere JF, Ndip RN, Chenwi EB (2002). Antibacterial effect of *Zingiber officinale* and Garcinia kola on respiratory tract pathogens. East Afr. Med. J., 79: 588-592.
5. Sebiomo, A. D. Awofodu, A. O. Awosanya, F. E. Awotona and A. J. Ajayi. (2011). Comparative studies of antibacterial effect of some antibiotics and ginger (*Zingiber officinale*) on two pathogenic bacteria. J. Microbiol. Antimicrob. Vol. 3(1), pp. 18-22.
6. Kaushik P, Goyal P (2011). Evaluation of Various Crude Extracts of *Zingiber officinale* Rhizome for Potential Antibacterial Activity: A Study in *Vitro*, Advances in Microbiology Vol. 1, pp. 7-12.
7. Grace US, Sankari M, Gopi (2017). Antimicrobial Activity of Ethanolic Extract of Zingiber Officinale – An in vitro Study J. Pharm. Sci. Res. 9(9), 1417-1419.
8. Chrubasik, S., Pittler, M.H. and Roufogalis, B.D (2005). Zingiberis rhizome: Comprehensive review on the ginger effect and efficacy effect and efficacy profiles. Phytomedicine, 12: 684701.
9. Kennish, M. J. (1992). Ecology of Estuaries. Anthropogenic effects. CRC. Press, Inc., Boca Raton, F1.
10. Dahiya, A.S , R . Karpe, A.G. Hegde and R.M. Shsrma. (2005). Lead, Cadmium and nickel in chocolate and candies from suburban areas Mumbai, India. J. Food . Compos. Anal.18:517-522.

11. FAO,WHO (1999) Joint FAO/WHO food standards program. Codex Alimentarius Commission Contamination CAC/Vol X V11 FAO, Roma and WHO, Geneva.
12. Goyer, R.A (1986). Toxic effects of metals. In Casarett and Baull's toxicology: The basic science of poisons (C. D. Klaassen; M.O.Amdur; and J.Doull, Eds). Macmillan Publishing Company. New Your p, 583-635.
13. Kuruvilla, A.; Pillay, V.; Adhikari, P.; Venkatesh, T.; Chakrapani, M.; Rao, H.; Bastia, B.; Rajeev, A.; Saralaya, K.; Rai, M. (2006). Clinical manifestations of lead Workers of mangalore, India. Toxicol. Ind. Health, 22 (9), 405-413.
14. Murray, R. K., Granner, D. K., Mayes, P. A., Rodwell, V. W (2000). Harper's Biochemistry 25 th. ed. Appleton and Lange, p660.
15. Ysart, G., Miller, P., Croasdale, M., Crews, H., Robb, P., Baxter, M deL'Arge, C., and Harrison, N (2000) UK Total Diet Study-Dietary Exposures to Aluminum, Arsenic, Cadmium, Chromium, Copper, Lead Mercury, Nickel, Selenium, Tin and Zinc. Food Additives and Contaminants (17),9 p 775-786
16. Bauer A W, Kirby W M M, Sherris J C & Turck M (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Amer. J. Clin. Pathol. 45:493-6.
17. Frick,F. and Robbins,W (1979). Trace elements Analysis of Food and Beverages by AAS. Progress in Analytical Atomic Spectroscopy. 2:185.
18. Chrubasik, S., Pittler, M.H. and Roufogalis, B.D (2005). Zingiberis rhizome: Comprehensive review on the ginger effect and efficacy effect and efficacy profiles. Phytomedicine, 12: 684701.
19. Grzanna, R., Lindmark,L. and Frondoza,C.G (2005). Ginger-an herbal medicinal product with broad anti- inflammatory actions. J. Med. Food., 8: 125- 132.

20. Michael derrida (1999). Common spices protect bacteria during irradiation 1999. Am. Chem. Soc. 2: 270-275. Patmaraj S 2000 Drug delivery. J. Nucl. Med. 7: 91-95.
21. Ekwenye UN, Elegalam NN (2005). Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and garlic (*Allium sativum* L.) extracts on *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* J. Mol. Med. Adv. Sci ;1(4): 411-416.
22. Ghizzola, R. H.; Michitsch and Franz, C (2003). "Monitoring of metallic micronutrients and heavy metals in herbs, spices and medicinal plants from Austria J. Eur. Food. Res. Technol. 216 : 407 – 41.

Study of the inhibitory activity of the alcoholic extract of ginger plant on bacteria *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, and the concentration of some heavy metals

Hend I. Almabrok Pharmacology Department, Faculty of Medical Technology, Misurata–Libya

Asma A. Alajeli Microbiology Department, Faculty of Dentistry, ALjabal ALgarbi University, Ghrain –Libya

Nadia A. Eltaher Pharmacology Department, Faculty of Medicine, ALjabal ALgarbi University, Ghrain –Libya

Abstract

The inhibitory activity of the ethanolic extract of ginger plant with the three concentration of each one (30, 50, 100)% were tested against two types of pathogenic bacteria (*Staphylococcus Aureus*, *Bacillus Cereus*) after incubation for 24 hours and at a temperature of 37. The alcohol extract showed significant inhibitory effect against pathogenic bacteria under study, the effectiveness has increased with increasing concentrations where the diameter of the inhibition zone varies between (9–15mm).

Concentrations of some of the heavy metals of the ginger plant were also estimated by the atomic absorption spectrometer. The heavy metals were recorded with different concentrations where they were values (0.65 ،0.61 ، 14.841 ،93.33) For each of the elements (Lead, cadmium, copper, iron, zinc) respectively. The study showed that the concentrations of all heavy metals are within the permissible limits except cadmium.

Keywords: Ginger, antibacterial activity, Heavy metals, Atomic absorption spectrometer