



OŠ Ljudski vrt Ptuj

Raziskovalno področje: **KEMIJA**

**RAZISKOVALNA NALOGA**

# **Protimikrobni učinek ekstraktov česna, ingverja in hrena na *Staphylococcus aureus* in *Escherichia coli***



Avtorja: Gabriel Pagliaruzzi, Luka Kramperšek

Mentorica: Maja Smiljan

Somentorica: dr. Maja Bombek Ihan

Šola: OŠ Ljudski vrt Ptuj

Ptuj, marec 2024

## **ZAHVALA**

Posebna zahvala velja mentorici Maji Smiljan za strokovno pomoč in podporo pri raziskovalni nalogi.

Zahvala velja NLZOH Maribor, kjer smo izvajali drugi del eksperimentalnega dela raziskovalne naloge. Hvala tudi somentorici dr. Maji Bombek Ihan za strokovno pomoč in usmerjanje pri izvajanju eksperimentalnega dela.

## POVZETEK

Številne raziskave potrjujejo, da ekstrakti različnih rastlin zavirajo razmnoževanje mikroorganizmov. V raziskovalni nalogi smo želeli raziskati protimikrobni učinek vodnih in etanolnih ekstraktov česna, ingverja in hrena na bakteriji *Escherichia coli* in *Staphylococcus aureus*. Z metodo difuzije v trdnem gojišču z diski smo določali premere inhibicijskih con.

Rezultati so pokazali, da vodni ekstrakt česna kaže protimikrobno aktivnost na obe bakteriji. Ostali ekstrakti niso pokazali protimikrobne aktivnosti. Potrebne bodo še dodatne raziskave s standardiziranimi metodami.

## SUMMARY

Numerous studies confirm that extracts of various plants inhibit reproduction microorganisms. In the research paper, we wanted to investigate the antimicrobial effect of water and ethanolic extracts of garlic, ginger and horseradish on the bacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The diameters of the inhibition zones were determined using the diffusion method in a solid medium with discs.

The results showed that the aqueous extract of garlic showed antimicrobial activity against both bacteria. Other extracts did not show antimicrobial activity. Additional research with standardized methods will be needed.

## VSEBINA

POVZETEK.....	3
SUMMARY.....	3
<b>1. UVOD.....</b>	<b>6</b>
1.1 Raziskovalno vprašanje.....	6
1.2 Hipoteze.....	7
<b>2. TEORETIČNI DEL.....</b>	<b>7</b>
2.1 Rastline.....	7
2.1.1 Česen ( <i>Allium sativum</i> ).....	7
2.1.2 Ingver ( <i>Zingiber officinale</i> ).....	8
2.1.3 Hren ( <i>Armoracia rusticana</i> ).....	8
2.2 Organizmi.....	9
2.2.1 Barvanje po Gramu.....	9
2.2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
2.2.3 <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.3 Gojišča.....	11
2.3.1 Osnovna gojišča.....	12
<b>3. EMPIRIČNI DEL.....</b>	<b>12</b>
3.1 Seznam materiala.....	12
3.2 Priprava etanolnih in vodnih izvlečkov.....	14
3.3 Metoda difuzije v trdem gojišču z diski.....	15
3.4 Meritve.....	16
<b>3. REZULTATI.....</b>	<b>17</b>
<b>4. ZAKLJUČEK.....</b>	<b>27</b>
<b>6. VIRI.....</b>	<b>28</b>

## KAZALO SLIK

Slika 1: Česen (Vir: Wikimedia) .....	7
Slika 2: Česen v naravi (Vir: Wikimedia) .....	7
Slika 3: Ingver (Vir: Wikimedia).....	8
Slika 4: Hren (Vir: Wikimedia).....	8
Slika 5: Postopek barvanja po Gramu (Vir: Praktikum iz mikrobiologije in imunologije za študente medicine).....	9
Slika 6: <i>S. aureus</i> , obarvan po Gramu (Vir: Wikimedia) .....	10
Slika 7: <i>S. aureus</i> na gojišču (Vir: Wikimedia) .....	10
Slika 8: <i>E. coli</i> , obarvan po Gramu (Vir: Wikimedia).....	11
Slika 9: Agar (Vir: Wikimedia) .....	12
Slika 10: Oprema pri pripravi ekstraktov (Vir: lasten).....	12
-filtrirni papir	Slika 11: Agar z bakterijami (Vir: last 13
Slika 12: Denzimeter (Vir lasten).....	13
Slika 13: Lupljenje ingverja (Vir lasten).....	14
Slika 14: Vodni in etanolni izvleček ingverja .....Slika 15: Vodni in etanolni izvleček česna po 24 urah (Vir: lasten)	14
Slika 16: Filtriranje (Vir: lasten).....	15
Slika 17: Nanos bakterijske kulture na agar (Vir: lasten) .....	15
Slika 18: Delovanje vodnega ekstrakta česna na <i>S. aureus</i> (Vir: lasten) .....	17
Slika 19: Delovanje vodnega ekstrakta česna na <i>E. coli</i> (Vir: lasten) .....	18
Slika 20: Delovanje vodnega ekstrakta česna na <i>S. aureus</i> (Vir: lasten).....	19
Slika 21: Delovanje vodnega ekstrakta česna na <i>E. coli</i> (Vir: lasten) .....	19
Slika 22: Delovanje česnovih etanolnih ekstraktov na <i>S. aureus</i> (Vir: lasten) .....	20
Slika 23: Delovanje česnovih etanolnih ekstraktov na <i>E. coli</i> (Vir: lasten).....	21
Slika 24: Delovanje ingverjevih vodnih ekstraktov na <i>S. aureus</i> (Vir: lasten) .....	22
Slika 25: Delovanje ingverjevih vodnih ekstraktov na <i>E. coli</i> (Vir: lasten).....	22
Slika 26: Delovanje etanolnih ekstraktov ingverja na <i>S. aureus</i> (Vir: lasten).....	23
Slika 27: Delovanje etanolnih ekstraktov ingverja na <i>E. coli</i> (Vir: lasten).....	24
Slika 28: Delovanje vodnih ekstraktov hrena na <i>S. aureus</i> (Vir: lasten).....	25
Slika 29: Delovanje vodnih ekstraktov hrena na <i>E. coli</i> (Vor: lasten).....	25
Slika 30: Delovanje etanolnih ekstraktov hrena na <i>S. aureus</i> (Vir: lasten) .....	26
Slika 31: Delovanje etanolnih ekstraktov hrena na <i>E. coli</i> (Vir: lasten).....	27

## KAZALO TABEL

Tabela 1: Česen v vodi, prvi poskus .....	17
Tabela 2: Česen v vodi, drugi poskus (Vir: lasten).....	18
Tabela 3: Česen v etanolu (Vir: lasten) .....	20
Tabela 4: Ingver v vodi (Vir: lasten) .....	21
Tabela 5: Ingver v etanolu .....	23
Tabela 6: Hren v vodi .....	24
Tabela 7: Hren v etanolu.....	26

## 1. UVOD

Mikrobiologija predstavlja področje znanosti, ki neredko vzbuja občutek strahospoštovanja, saj kljub številnim raziskavam in napredku na tem področju, bakterije in virusi potujejo svojo pot. Bakterije razvijajo odpornost (imunost) na antibiotike, kljub temu, da človek intenzivno razvija nove metode in postopke »upora« proti njim. Sposobne so hitrega prilagajanja, v zelo kratkem času so zmožne razviti imunost na sintetične antibiotike. Lahko bi rekli, da so več let pred človeštvom, tudi njihov obstoj se je pojavil veliko pred človekom.

Flemingovo odkritje penicilina leta 1928 je drastično prispevalo k razvoju in napredku na področju (patogenih) bakterij in predstavljalo veliko revolucijo. Danes se medicina in farmacija spopadata z drugačnimi izzivi. Pojav antibiotikov v prehrani (meso) pripomore k odpornosti bakterij. Posledično obstajajo sevi, ki so odporni na vse znane sintetične antibiotike (MRSA).

Zaradi zgoraj naštetih dejstev, je smiselno iskati druge, alternativne metode za inhibiranje patogenih mikroorganizmov. Narava ponuja veliko možnosti na tem področju, žal je veliko od teh še neraziskanih ali premalo raziskanih.

V raziskovalni nalogi smo želeli preučiti vpliv vodnih in etanolnih ekstraktov česna, ingverja in hrena. Omenjene rastline naj bi skozi zgodovino dobile sloves protimikrobnega delovanja, ki je rezultat vsebnosti fenolov in terpenoidov.

Kot protimikrobne definiramo snovi, ki upočasnjujejo in preprečujejo rast mikroorganizmov. Glede na njihovo učinkovitost jih delimo v dve skupini. Bakteriostatske oz. fungistatske snovi lahko le inhibirajo oz. upočasnijo rast mikroorganizmov, baktericidne oz. fungicidne snovi pa mikroorganizme uničijo (Petauer 1993).

Številne raziskave potrjujejo protimikrobno delovanje uporabljenih rastlinskih izvlečkov, mi smo želeli preveriti kako je z delovanjem vodnih in etanolnih ekstraktov na dve patogeni bakteriji – *E. coli* in *S. aureus*.

### 1.1 RAZISKOVALNO VPRAŠANJE

Kakšen je protimikrobni učinek etanolnih in vodnih preparatov česna, ingverja in hrena na *Escherichia coli* in *Staphylococcus aureus*?

Za določevanje protimikrobnega delovanja smo uporabili metodo difuzije v trdnem gojišču z diski.

## 1.2 HIPOTEZE

1. Etanolni ekstrakti vseh rastlin bodo pokazali protimikrobno delovanje.
2. Vodni ekstrakt česna bo pokazal najmočnejše protimikrobno delovanje, saj je česen izmed izbranih rastlin najbolj poznan po vsebnosti protimikrobnih spojin.
3. Domnevamo, da bodo etanolni ekstrakti pokazali močnejšo protimikrobno delovanje kot vodni ekstrakti, saj je etanol primernejše topilo za protimikrobne spojine v rastlinah (flavonoide in terpene) (Bremness 1994, Petauer 1993).

## 2. TEORETIČNI DEL

### 2.1 RASTLINE

#### 2.1.1 ČESEN (*ALLIUM SATIVUM*)



SLIKA 1: ČESEN (VIR: WIKIMEDIA)

Česen spada v družino lukovk. Izhaja iz centralne Azije, gojena pa je po celem svetu. Čebula, ovita v nežne bele ovojke liste, požene do 1 m visok, okrogel poganjek, ki ga do polovice obdaja celorobi koničasti listi. Na vrhu se razvije rožnat do blede vijoličast cvetni kobul z aromatičnimi zarodnimi brstiči. Primeren čas za pobiranje česna je pozno poletje. Uporabni del česna je čebula. Pogosto se najde v tradicionalni medicini, tam so ga že uporabljali

Rimljani in Egipčani. Kot začimba se uporablja že več tisoč let.



SLIKA 2: ČESEN V NARAVI (VIR: WIKIMEDIA)

### 2.1.2 INGVER (*ZINGIBER OFFICINALE*)

Ingver je rastlina iz rodu *Zingiber*. Prav tako izhaja iz Azije, natančneje jugovzhodne Azije. Poznali so ga že Kitajci in Indijci 1. stol. pr. n. st.

V kulinariki se uporabljajo njegove korenike.

Te korenike se uporabljajo za razne napitke in kot začimba. Listnata stebela ingverja zrastejo približno 1 meter visoko.

Listi so dolgi od 15 do 30 cm, podolgovati, izmenično v dveh navpičnih vrstah in izhajajo iz ovojnic, ki ovijajo steblo. Cvetovi so v gostih stožčastih klasih, debelih približno 2,5 cm in dolgih od 5 do 8 cm.



SLIKA 3: INGVER (VIR: WIKIMEDIA)

### 2.1.3 HREN (*ARMORACIA RUSTICANA*)



SLIKA 4: HREN (VIR: WIKIMEDIA)

Hren je trajnica iz rodu *Armoracia*. Izhaja iz Jg. Evrope. Korenina navadnega hrena je dodatek klobasam, ribam in omakam. Iz pokončnega do 60 cm dolgega korena izraščajo sijoči živo zeleni, do 1,5 m visoki listi z močno osrednjo žilo. Drobni beli cvetovi med majem in julijem visijo v številnih grozdih na razvejanih steblih. Uporabni del hrena je korenina.

## 2.2 ORGANIZMI

V raziskovalni nalogi je bila uporabljena ena Gram pozitivna bakterija (*Staphylococcus aureus*) in ena Gram negativna bakterijo (*Escherichia coli*).

Izbrali smo jih, ker nas je zanimalo, ali so “naravni antibiotiki” res antibiotiki oz. ali imajo kakšen vpliv na patogene bakterije.

### 2.2.1 BARVANJE PO GRAMU

Z barvanjem po Gramu lahko ločimo

bakterije z debelim slojem peptidoglikana – te

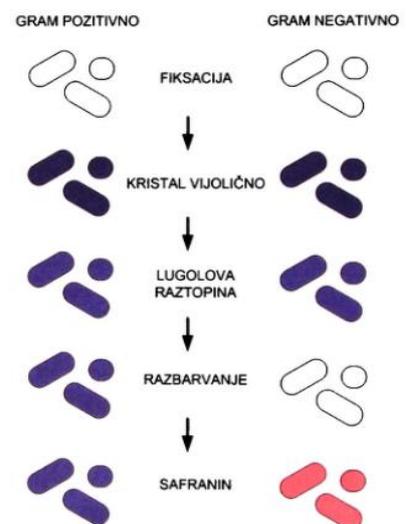
imajo debelejšo celično steno

(po Gramu pozitivne bakterije) od tistih s tankim

slojem peptidoglikana in zunanjo membrano, ki jo

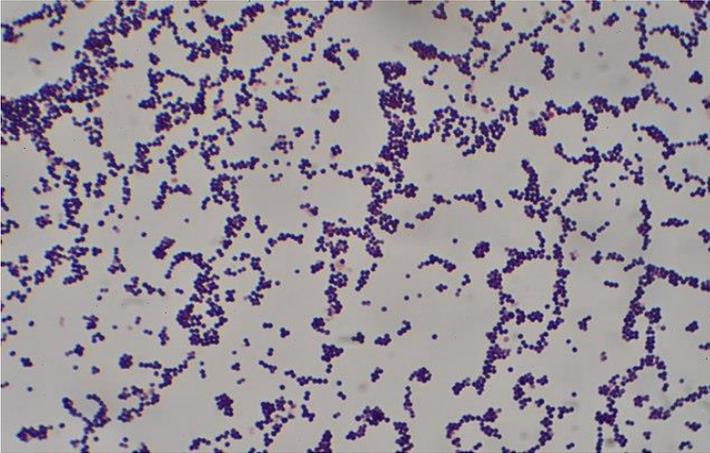
lahko raztopi alkohol ali aceton - tanjša celična

stena (po Gramu negativne bakterije). (Kotnik, 2011)



SLIKA 5: POSTOPEK BARVANJA PO GRAMU (VIR: PRAKTIKUM IZ MIKROBIOLOGIJE IN IMUNOLOGIJE ZA ŠTUDENTE MEDICINE)

### 2.2.2 STAPHYLOCOCCUS AUREUS



Škotski kirurg Alexander Ogston je leta 1880 prvi opisal po Gramu pozitivne koke, ki se urejajo v značilne gruče in povzročajo gnojne okužbe pri ljudeh. Poimenoval jih je stafilokoki, kar je zloženko iz grških besed staphyle (grozd) in kokkos (jagoda, zrno), kar se nanaša na njihov videz.

SLIKA 6: *S. AUREUS*, OBARVAN PO GRAMU

(VIR: WIKIMEDIA)

Stafilokoki imajo premer približno 1  $\mu\text{m}$ . Urejajo se v nepravilne gruče. So negibljivi, fakultativni anaerobi, vendar kljub temu bolje rastejo v aerobnem okolju. Danes je znanih 30 različnih vrst rodu *Staphylococcus*. Najpomembnejša patogena vrsta za človeka je *Staphylococcus aureus*, ki ga imenujemo tudi zlati stafilokok (zaradi njegovih zlato-rumenih kolonij). Osnovna značilnost, po kateri *S. aureus* ločimo od drugih stafilokokov, je izdelovanje koagulaze, encima, ki pretvori fibrinogen v fibrin, zato ga uvrščamo med koagulazno pozitivne stafilokoke.



Pri ljudeh povzroča okužbe kože in mehkih tkiv, okužbe sklepov, dihal, sečil, lahko povzroči srčnih zaklopov, sepso, okužbe osrednjega živčevja, preko izločanja določenih toksinov pa pride tudi nastanka težkega sindroma toksičnega šoka, nastanka kožnih sprememb z luščenjem ali zastrupitve s hrano. Okužbe *S. aureus* je potrebno zdraviti s protimikrobnimi zdravili (antibiotiki), v primeru lokalnega gnojnega vnetja je potrebna tudi lokalna kirurška oskrba.

SLIKA 7: *S. AUREUS* NA GOJIŠČU (VIR: WIKIMEDIA)

### 2.2.3 *ESCHERICHIA COLI*



*E. coli* je prvi opisal nemški zdravnik Escherich leta 1885. Vrste iz rodu *Escherichia* so tipične predstavnice enterobakterij. Je bakterija, na kateri so proučili zgradbo, rast in metabolizem bakterijske celice. Uporabljajo jo kot vektor za kloniranje genov in testni organizem pri preizkušanju učinkovitosti protimikrobnih zdravil in razkužil ter kot indikator fekalne kontaminacije vode in hrane. Povzroča okužbe prebavil in zunajčrevesne okužbe.

SLIKA 8: *E. COLI*, OBARVAN PO GRAMU (VIR: WIKIMEDIA)

So po Gramu negativni fakultativno anaerobni bacili. Večina sevov je gibljiva. Nevirulentni sevi so del normalne črevesne flore. Virulentni sevi povzročajo okužbe v prebavilih in zunajčrevesne okužbe pri človeku in živalih.

Najpogostejše okužbe, ki jih *E. coli* povzroča, so okužbe sečil, driske, pljučnice, okužbe znotraj trebušne votline, pri novorojenčkih pa je pomembna kot povzročitelj sepse in meningitisa.

Okužbe z *E. coli* je potrebno zdraviti s protimikrobnimi zdravili (antibiotiki); izjema je zdravljenje drisk.

## 2.3 GOJIŠČA

Bakterije za rast potrebujejo primerna hranila in okolje. Glede potrebe po hranilih lahko z izbiro določenih gojišč ustvarimo najustreznejše pogoje za rast določene bakterijske vrste. V modernih mikrobioloških laboratorijih izbirajo za osamitev določene vrste mikroorganizmov gojišča na dogovorjen (standardiziran) način. Ta je odvisen od mesta povzročitelja okužbe (npr. žrelo) in možnega povzročitelja (npr. stafilokoki).

Osnova vseh bakterioloških gojišč je voda, v kateri so raztopljene hranilne snovi (sladkorji, peptoni, peptidi, aminokisliline, vitamini in minerali...). Poznamo več vrst gojišč: osnovna gojišča, obogatena gojišča, bogatitvena gojišča, diferencialna gojišča, selektivna gojišča...

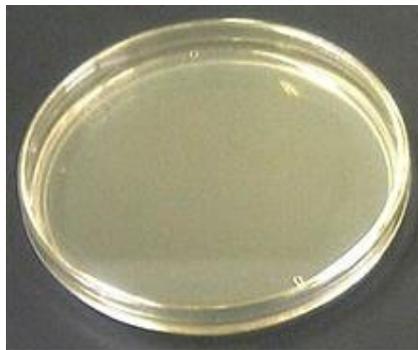
### 2.3.1 OSNOVNA GOJIŠČA

Osnovna gojišča so enostavno sestavljena in namenjena rasti čim več različnih mikroorganizmov.

Osnovna gojišča so:

- navadni bujon (NB) - mesna juha (1 liter), NaCl (0,5 %), pepton (1 %);
- navadni agar (NA) - NB z dodatkom agarja (1,5-2,5 %)
- MH (Mueller-Hinton agar) za ugotavljanje občutljivosti za antibiotik.

Za ugotavljanje protimikrobnih učinkov ingverja, hrena in česna smo uporabili MH agar.



SLIKA 9: AGAR (VIR: WIKIMEDIA)

## 3. EMPIRIČNI DEL

### 3.1 SEZNAM MATERIALA

-*Allium sativum*

-*Zingiber officinale*

-*AArmoracia rusticana*

-*Staphylococcus aureus*

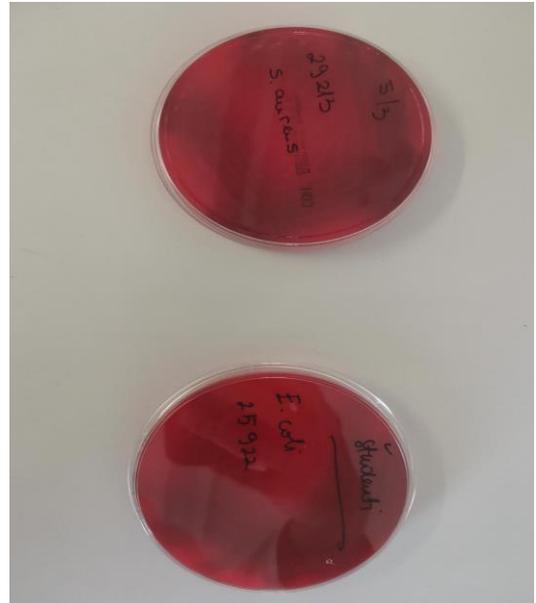
-*Escherichia coli*

-30 % etanol



SLIKA 10: OPREMA PRI PRIPRAVI EKSTRAKTOV (VIR: LASTEN)

- 96 % etanol
- Mueller-Hinton agar
- ampicilin (AM-10)
- kloksacilin (FOX-30)
- fiziološka raztopina
- diski - pripravljene iz papirja za kavni filter
- petrijevke
- epruvete
- avtomatska pipeta
- Bunsenov gorilnik
- Vorteks mešalnik
- digitalni kaliper
- FILTRIRNI PAPIR
- stojala
- inkubator



SLIKA 11: AGAR Z BAKTERIJAMI (VIR: LASTEN)



SLIKA 12: DENZIMETER (VIR LASTEN)

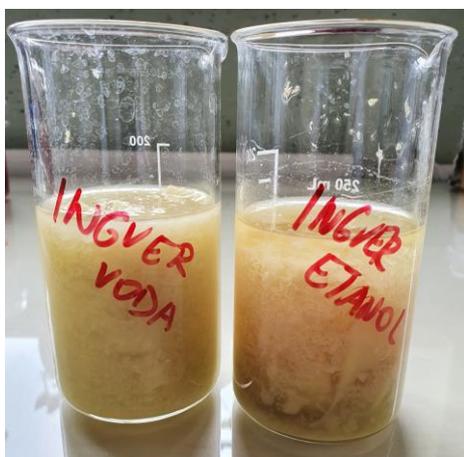
### 3.2 PRIPRAVA ETANOLNIH IN VODNIH IZVLEČKOV

Postopek ekstrakcije smo prilagodili protokolu, ki ga predlaga Ankit s sodelavci (2012). Pripravili smo vodne in etanolne izvlečke hrena, ingverja in česna. 80 g olupljenih plodov rastlin smo prelili z 80 ml vode oz. etanola. Čaše, v katere smo rastline dali, smo postavili temen prostor, kjer smo jih pustili 24 ur.



SLIKA 13: LUPLJENJE INGVERJA (VIR LASTEN)

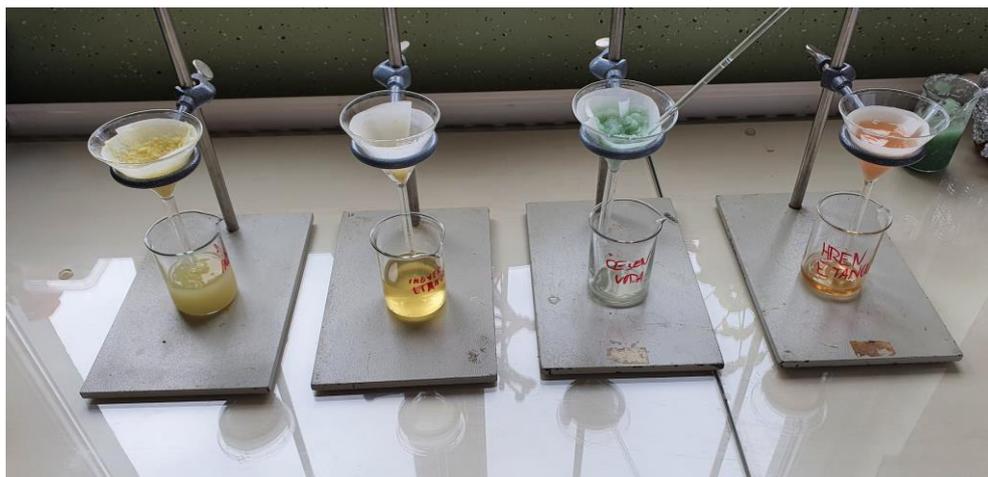
Po 24 urah smo mešanico prefiltrirali, da smo ločili pridobljen izvleček od rastlinskega materiala. Etanolni filtrat smo segrevali toliko časa, da smo izparili ves etanol. Od dobljenega suhega materiala smo odmerili 500 mg in prelili s 5 ml 30 % etanola. Vodnih ekstraktov nismo redčili.



SLIKA 14: VODNI IN ETANOLNI IZVLEČEK INGVERJA ČESNA PO 24 URAH (VIR: LASTEN)



SLIKA 15: VODNI IN ETANOLNI IZVLEČEK ČESNA PO 24 URAH (VIR: LASTEN)



SLIKA 16: FILTRIRANJE (VIR:LASTEN)

### 3.3 METODA DIFUZIJE V TRDEM GOJIŠČU Z DISKI

Iz trdnih gojišč z čistima kulturama *E. coli* in *S. aureus*, smo s sterilno ezo odvzeli po eno kolonijo bakterije in jo suspendirali v ustrezno tekoče gojišče – Mueller Hinton agar. Na ta način smo dobili predvideno koncentracijo bakterij  $1,5 \times 10^8$  cfu (colony forming units/ml). Kulturi smo inkubirali čez noč  $35^\circ \text{C}$ .

Na gojišča smo nato dali diske iz steriliziranega filtrirnega papirja, na katere smo nanесли  $20 \mu\text{l}$  rastlinskega izvlečka s pomočjo avtomatske kapalke. Kulturi z izvlečki smo inkubirali čez noč na  $35^\circ \text{C}$ .



SLIKA 17: NANOS BAKTERIJSKE KULTURE NA AGAR (VIR: LASTEN)

### 3.4 MERITVE

Po 24 urah smo začeli z meritvami velikosti inhibicijskih con. Meritve smo opravili z digitalnim kaliprom. Upoštevali smo največji premer con in velikost diskov (6mm). Za pozitivno kontrolo na *E. coli* smo uporabili ampicilin, na *S. aureus* pa kloksacilin. Za negativno kontrolo smo diske prepojili s fiziološko raztopino.

Prvič smo meritve opravili s 16 petrijevki. V vsako smo dali 5 diskov prepojenih z rastlinskimi izvlečki in 1 disk s kontrolno snovjo. Gojišča smo pripravljali v parih - v eno gojišče smo (zraven 5 diskov z izvlečki) položili disk prepojen s fiziološko raztopino (negativna kontrola), v drugo pa antibiotik (pozitivna kontrola). Od rastlinskih izvlečkov smo uporabili: česen (voda, etanol), ingver (voda, etanol).

Drugič smo meritve ponovili le pri česnu z vodo, dodali pa smo še hren (voda, etanol); tokrat smo porabili še 12 petrijev. Priprava je potekala enako kot pri prejšnjih meritvah.

### 3. REZULTATI

Bakterija	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Vrsta antibiotika	Fox-30	Am-10
Snov na disku	Velikost inhibicijskih con	
1. ponovitev		
Antibiotik (pozitivna kontrola)	24	18
Česen H <sub>2</sub> O	12	9
Česen H <sub>2</sub> O	10	13
Česen H <sub>2</sub> O	22	14
Česen H <sub>2</sub> O	20	13
Česen H <sub>2</sub> O	22	10
2. ponovitev		
Fiziološka raztopina (negativna kontrola)	6	6
Česen H <sub>2</sub> O	8	14
Česen H <sub>2</sub> O	8	15
Česen H <sub>2</sub> O	18	13
Česen H <sub>2</sub> O	22	14
Česen H <sub>2</sub> O	6	14

TABELA 1: ČESEN V VODI, PRVI POSKUS



SLIKA 18: DELOVANJE VODNEGA EKSTRAKTA ČESNA NA *S. AUREUS* (VIR: LASTEN)

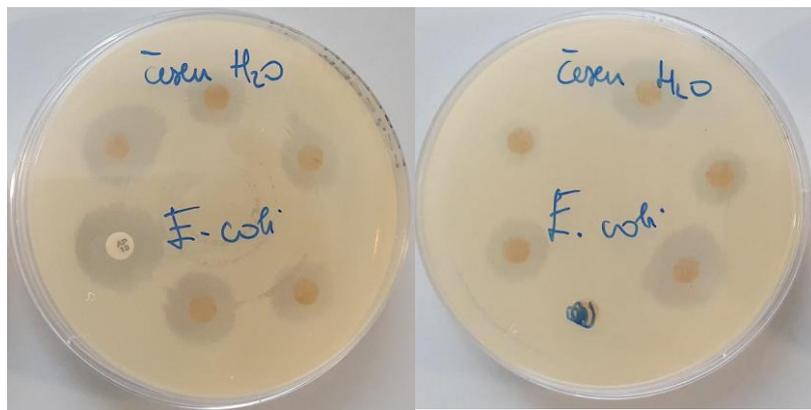
SLIKA 19: DELOVANJE VODNEGA EKSTRAKTA ČESNA NA *E. COLI* (VIR: LASTEN)

Bakterija	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Vrsta antibiotika	Fox-30	Am-10
Snov na disku	Velikost inhibicijskih con	
1. ponovitev		
Antibiotik (pozitivna kontrola)	25	18
Česen H <sub>2</sub> O	23	19
Česen H <sub>2</sub> O	19	13
Česen H <sub>2</sub> O	25	14
Česen H <sub>2</sub> O	22	14
Česen H <sub>2</sub> O	22	16
2. ponovitev		
Fiziološka raztopina (negativna kontrola)	6	6
Česen H <sub>2</sub> O	22	18
Česen H <sub>2</sub> O	22	13
Česen H <sub>2</sub> O	23	16
Česen H <sub>2</sub> O	20	11
Česen H <sub>2</sub> O	25	14

TABELA 2: ČESEN V VODI, DRUGI POSKUS (VIR: LASTEN)



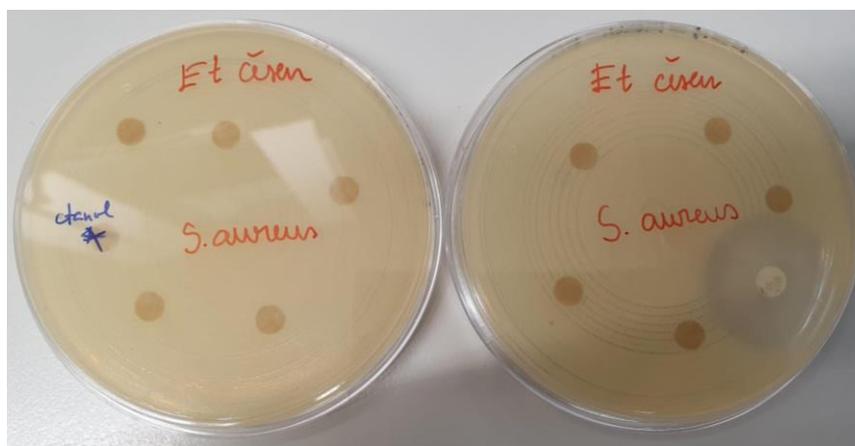
SLIKA 20: DELOVANJE VODNEGA EKSTRAKTA ČESNA NA *S. AUREUS* (VIR: LASTEN)



SLIKA 21: DELOVANJE VODNEGA EKSTRAKTA ČESNA NA *E. COLI* (VIR: LASTEN)

Bakterija	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Vrsta antibiotika	Fox-30	Am-10
Snov na disku	Velikost inhibicijskih con	
1. ponovitev		
Antibiotik (pozitivna kontrola)	29	22
Česen etanol	6	6
2. ponovitev		
Fiziološka raztopina (negativna kontrola)	6	6
Česen etanol	6	6

TABELA 3: ČESEN V ETANOLU (VIR: LASTEN)

SLIKA 22: DELOVANJE ČESNOVIH ETANOLNIH EKSTRAKTOV NA *S. AUREUS* (VIR: LASTEN)

SLIKA 23: DELOVANJE ČESNOVIH ETANOLNIH EKSTRAKTOV NA *E. COLI* (VIR: LASTEN)

Bakterija	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Vrsta antibiotika	Fox-30	Am-10
Snov na disku	Velikost inhibicijskih con	
1. ponovitev		
Antibiotik (pozitivna kontrola)	26	20
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
2. ponovitev		
Fiziološka raztopina (negativna kontrola)	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6
Ingver H <sub>2</sub> O	6	6

TABELA 4: INGVER V VODI (VIR: LASTEN)



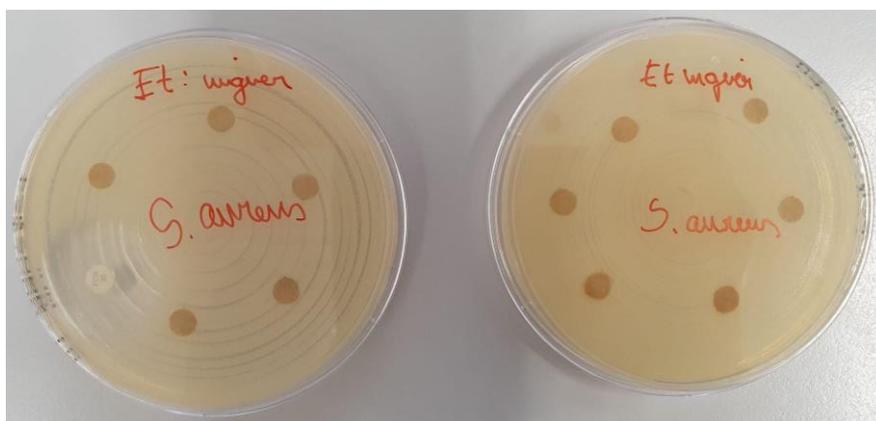
SLIKA 24: DELOVANJE INGVERJEVIH VODNIH EKSTRAKTOV NA *S. AUREUS* (VIR: LASTEN)

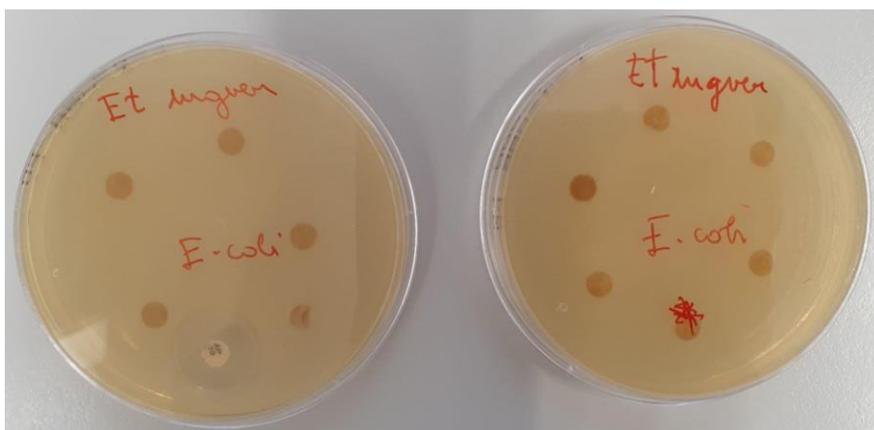


SLIKA 25: DELOVANJE INGVERJEVIH VODNIH EKSTRAKTOV NA *E. COLI* (VIR: LASTEN)

Bakterija	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Vrsta antibiotika	Fox-30	Am-10
Snov na disku	Velikost inhibicijskih con	
1. ponovitev		
Antibiotik (pozitivna kontrola)	26	21
Ingver etanol	6	6
2. ponovitev		
Fiziološka raztopina (negativna kontrola)	6	6
Ingver etanol	6	6

TABELA 5: INGVER V ETANOLU

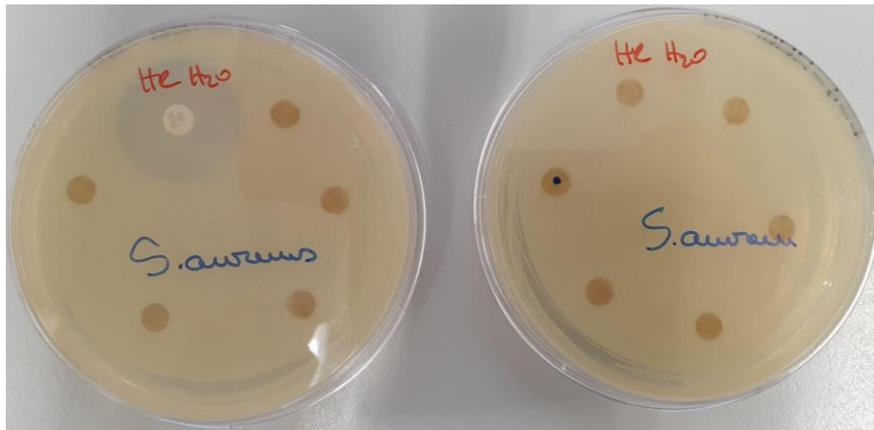
SLIKA 26: DELOVANJE ETANOLNIH EKSTRAKTOV INGVERJA NA *S. AUREUS* (VIR: LASTEN)



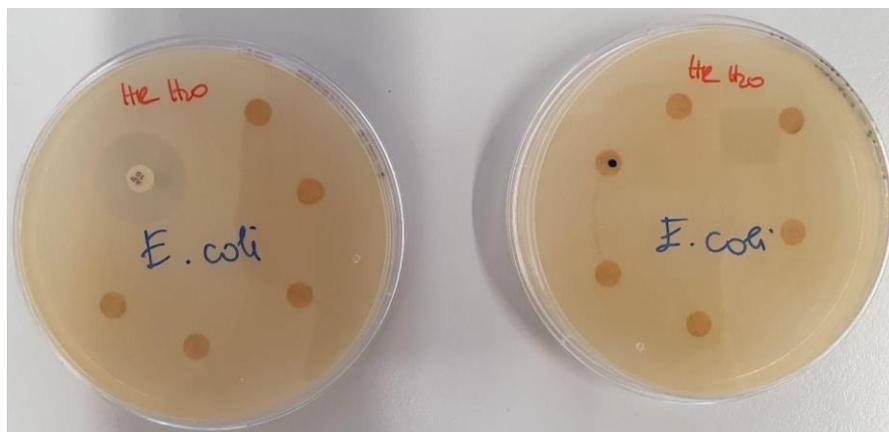
SLIKA 27: DELOVANJE ETANOLNIH EKSTRAKTOV INGVERJA NA *E. COLI* (VIR: LASTEN)

Bakterija	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Vrsta antibiotika	Fox-30	Am-10
Snov na disku	Velikost inhibicijskih con	
1. ponovitev		
Antibiotik (pozitivna kontrola)	26	18
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
2. ponovitev		
Fiziološka raztopina (negativna kontrola)	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6
Hren H <sub>2</sub> O	6	6

TABELA 6: HREN V VODI



SLIKA 28: DELOVANJE VODNIH EKSTRAKTOV HRENA NA *S. AUREUS* (VIR: LASTEN)



SLIKA 29: DELOVANJE VODNIH EKSTRAKTOV HRENA NA *E. COLI* (VOR: LASTEN)

Bakterija	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Vrsta antibiotika	Fox-30	Am-10
Snov na disku	Velikost inhibicijskih con	
1. ponovitev		
Antibiotik (pozitivna kontrola)	25	18
Hren etanol	6	6
2. ponovitev		
Fiziološka raztopina (negativna kontrola)	6	6
Hren etanol	6	6

TABELA 7: HREN V ETANOLU

SLIKA 30: DELOVANJE ETANOLNIH EKSTRAKTOV HRENA NA *S. AUREUS* (VIR: LASTEN)



SLIKA 31: DELOVANJE ETANOLNIH EKSTRAKTOV HRENA NA *E. COLI* (VIR: LASTEN)

## 4. ZAKLJUČEK

V naši raziskovalni nalogi smo ugotavljali delovanje etanolnih in vodnih ekstraktov česna, ingverja in hrena na rast mikroorganizmov in sicer na rast *S. aureus* kot po Gramu pozitivne bakterije in *E. coli* kot po Gramu negativne bakterije.

Domnevali smo, da bomo z etanolnimi ekstrakti vseh rastlin dosegli protimikrobni učinek na obe bakteriji. Med vodnimi ekstrakti smo najboljši učinek pričakovali pri česnu, saj je le – ta med rastlinami poznan po svojem najmočnejšem protimikrobnem delovanju. Domnevali smo, da bodo etanolni ekstrakti pokazali močnejšo protimikrobno delovanje kot vodni ekstrakti, saj je etanol primernejše topilo za protimikrobne spojine v rastlinah (flavonoide in terpene) (Bremness 1994, Petauer 1993), vendar tega nismo uspeli dokazati, zato 3. hipoteze nismo potrdili.

Rezultati naše raziskave so pokazali zelo dobro protimikrobno delovanje vodnega ekstrakta česna na *S. aureus* in na *E. coli*, kjer smo tako v prvem kot v drugem delu poskusa obkraj dokazali jasen baktericidni učinek česna. Velikosti izmerjenih inhibicijskih con so bile v dobri korelaciji s testiranim antibiotikom, kar kaže na jasen pozitiven učinek. S tem potrjujemo našo 2. hipotezo. Podobne rezultate so dokazali tudi v drugih raziskavah, kjer so podobno kot v naši, proučevali protimikrobno delovanje vodnega ekstrakta česna na Gram pozitivne in Gram negativne bakterije, prav tako *S. aureus* in *E. coli*. Kot protimikrobno učinkovino v česnu navajajo alicin, ki v bakteriji zavira sintezo DNK in proteinov, vpliva pa tudi na razkroj celične membrane.

V nasprotju s pričakovanjem pa pri etanolnem ekstraktu česna protimikrobnega delovanja nismo uspeli dokazati. Nekateri avtorji sicer opisujejo slabše delovanje etanolnega ekstrakta česna v primerjavi z vodnim, vsekakor pa navajajo precej široko protimikrobno delovanje česna, ki razen na omenjena *S. aureus* in *E. coli* deluje še na številne druge bakterije, kot so streptokoki, salmonella, šigela še druge bakterije.

Tudi s pripravki ingverja in hrena tako v obliki vodnega in etanolnega ekstrakta protimikrobnega učinka nismo uspeli dokazati, kar ovrže našo 1. hipotezo.

Protimikrobna učinkovitost ingverja je prav tako s številnimi raziskavami v zadnjem obdobju široko potrjena. Spekter njegovega delovanja je širok, najbolje prikazan v preglednem članku, ki je zajel okrog 40 objav, kjer pa so bili pripravki narejeni na najrazličnejše načine – razen vodnih in etanolnih ekstraktov so uporabljali še npr. eterična olja, methanol, eter... in pa tudi različne pristope v mikrobiološkem laboratoriju. Omenjenih pa je tudi kar nekaj raziskav, pri katerih, enako kot v naši, protimikrobnega učinka niso dokazali.

V hrenu je glavna opisana protimikroba sestavina izotiocianat. V literaturi zasledimo več člankov, kjer so opisani pozitivni učinki hrena na bakterije ustne flore ali pa na rezistentne bakterije, kot na primer MRSA. Podobne raziskave, pri kateri bi ugotavljali učinek vodnega in etanolnega ekstrakta na *S. aureus* in *E. coli* v literaturi nismo zasledili.

## 6. VIRI

1. Bremness, L., Velika knjiga o zeliščih, Mladinska knjiga, Ljubljana, 1997
2. Chand, B. ANTIBACTERIAL EFFECT OF GARLIC (*ALLIUM SATIVUM*) AND GINGER (*ZINGIBER OFFICINALE*) AGAINST *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *SALMONELLA TYPHI*, *ESCHERICHIA COLI* AND *BACILLUS CEREUS*. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 2013(4), 2481–91.
3. Gubina M., Ihan A., Medicinska bakteriologija z imunologijo in mikologijo, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo Medicinska fakulteta Univerza v Ljubljani, Ljubljana, Medicinski razgledi, 2002
4. Kotnik V., Praktikum iz mikrobiologije in imunologije za študente medicine, Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Inštitut za mikrobiologijo in imunologijo, Katedra za mikrobiologijo in imunologijo, Ljubljana, 2011
5. Mohammed Abidullah et al. Potential Antibacterial Efficacy of Garlic Extract on *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Klebsiella pneumoniae*: An In vitro Study *J Pharm Bioallied Sci.* 2021(13) 590–4.
6. Siewert, A. M., Rastlinski antibiotiki, Mladinska knjiga, Ljubljana, 2017
7. Tomažič J., Strle F. in sod, Infekcijske bolezni, Združenje za infektologijo, Slovensko zdravniško društvo, Ljubljana 2014/2015
8. Wail EA and Emad MA. Antibacterial Activity of Ginger (*Zingiber Officinale* Rosc.) Rhizome: A Mini Review. *Int J Pharmacogn Chinese Med* 2018, 2(4): 000142