دراسة كيميائية للزيت الطيار المستخلص من أوراق نبات الريحان *Ocimum basilicum* وتقييم فعاليته التثبيطية في بعض الأحياء المجهرية المرضية

آمنة نعمة الثويني ، صفاء عبد لطيف المعيني و أحمد حربي إبراهيم
جامعة بغداد / معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الإحيائية للدراسات العليا

الخلاصة

أستخدمت طريقة التقطير بالبخار بواسطة جهاز كلافينجر في استخلاص الزيت الطيار من أوراق نبات الريحان وبلغت نسبته (0.6 %), وتميز برائحته العطرة وبلونه الأصفر الباهت وطعمه اللاذع وهو لا يذوب في الماء ولكن يذوب في بعض المذيبات العضوية مثل الكحول الاثيلي، الهكسان ، الايثر والكلوروفورم وبلغت كثافته النوعية (0.9243) ومعامل انكساره (1.5155) في حين أعطى قيمة للدوران الضوئي بلغت (– 1.3). أما بالنسبة لصفاته الكيميائية فقد كانت قيمة رقم الحامض (1.68)، رقم التصبن (48.6) ورقم اليود (88.9).

قُدّرت نوعية وكمية بعض مكونات الزيت الطيار باستخدام جهاز كروماتوغرافي السائل ذات الأداء العالي فوجد انه يحتوي على 30 مركب طيار تم تشخيص 13 منها والمتضمنة α-Pinene ، Camphor، Myrecene ، Terpinolene, Carviol ، Methylcinnamate ، Carvone ، Linalool ، Eugenol ، Coumarin ، β-Caryophilline ، Geranial ، Methylchavicol بتراكيز (59 ، 306 ، 172 ، 124 ، 90 ، 314 ، 192 ، 105 ، 328 ، 321 ، 302 ، 228 ، 99) مايكروغرام / ململتر على التوالي .

أظهر الزيت الطيار فعالية تثبيطية تجاه الأحياء المجهرية *Staphylococcus aureus*، *Salmonella typhi* ، *Escherichia coli* ، *Aeromonas hydrophila* ، *Serratia marcescens* ، *Vibrio cholerae* ، *Klebsiella pneumoniae* وخميرة *Candida albicans* وقد أعطى أعلى تأثير تثبيطي في نمو بكتريا *Staph. aureus* إذ بلغ قطر منطقة تثبيط النمو (21) مليمتر,

قُدرت قيمة التركيز المثبط الأدنى MIC والتركيز القاتل الأدنى MBC لمستخلص الزيت الطيار إذ بلغ أقل قيمة MIC وMBC لبكتريا *Staph. aureus* (0.625 ، 1.25) % في حين بلغت أعلى قيمة MIC ، MBC على نمو بكتريا *Serratia marcescens* و *E.coli* (2.5 ، 5) % على التوالي.

المقدمة

ظهرت في الآونة الأخيرة رغبة كبيرة في استخدام النباتات الطبية في علاج الكثير من المسببات المرضية وذلك لخلو معظمها من التأثيرات الجانبية وسهولة تداولها واحتوائها على الكثير من المواد الفعالة ، وأن احتواء النبات على عدد من المركبات الكيميائية جعلها ذات أهمية طبية في علاج العديد من الأمراض وذلك باستعمالها بصورة مباشرة بهيئة محاليل وعصائر ومساحيق وكمادات أو بصورة غير مباشرة باستعمال المركبات الفعالة الموجودة في النبات بشكل نقي في الأغراض الطبية والعلاجية (1), ومنها النباتات العطرية (Aromatic plant) التي تحتوي في جزء أو اكثر من أجزائها على زيوت طيارة سواء كانت بصورتها الحرة أو المتحولة أو المتحللة مائياً تستخدم في مجالات اقتصادية وطبية مختلفة (2) وتسمى الزيوت الطيارة (Volatile oils) بالزيوت العطرية (Aromatic oils) لرائحته ا العطري ة المميزة أو بالزيوت الايثرية (Ethereal oils) لسهولة ذوبانها بالايث ر وتسمى أيض اً بالزي وت الأساسية (Essential oils) وتعد ذات أهمية اقتصادية كبيرة إذ تدخل كمواد أولية في عدد كبير من الصناعات المهمة ذات الفائدة العلمية والطبية والاقتصادية (3) ويعد نبات الريحان(Basil)(*Ocimum basilicum L.*) أحد نباتات العائلة الشفوية (Labiaceae) ويتميز هذا الجنس بوجود تباين كبير في الشكل الخارجي والتركيب الكيميائي

ومصدراً مهماً للزيوت الطيارة لكونه ذو خصائص اروماتية (عطرية) مختلفة تماما بعضها عن بعض عن المنطقة التي يزرع فيها (4) ولأهميته في الطب الشعبي كعشب له استخداماته الشافية للعديد من الأمراض . ولزيت الريحان (الزيت العطري) استخدامات عديدة إذ يستخدم في صناعة العطور ومستحضرات التجميل في صناعة الصابون والمنظفات (5) ويدخل في الكثير من الصناعات الغذائية لنكهته المميزة مثل صناعة الحلويات والمعجنات واللحوم المتبلة وأنواع السجق (6).

طرائق العمل

1-تحضير مستخلص الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان:-

صُنف النبات في معشب كلية العلوم / جامعة بغداد من قبل الأستاذ الدكتور علي حسين الموسوي إذ تم التصديق على النبات والتأكد من نوعه بأنه *Ocimum basilicum* وحُضر الزيت الطيار المستخلص من أوراق نبات الريحان بطريقة التقطير البخاري باستخدام جهاز كلافينجر والموصوف في دستور الأدوية البريطاني للأعشاب (7).

2- تقدير الصفات الفيزيائية للزيت الطيار لنبات الريحان:-

قُدرت بعض الصفات الفيزيائية مثل الرائحة , اللون , الطعم , الإذابة , الكثافة النوعية , معامل الانكسار والدوران الضوئي

حسب الطرائق المذكورة في (8 ، 9).

3- تقدير بعض الصفات الكيميائية للزيت الطيار لنبات الريحان :-

قُدرت بعض الصفات الكيميائية مثل رقم الحامض, رقم التصبن ورقم اليـــود حسب الطرائق المذكورة في (8،9).

4- تقدير نوعية وكمية بعض المركبات الفعالة للزيت الطيار باستخدام جهاز كروماتوغرافي السائل ذي الاداء العالي :-

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

أُستعملت طريقة الفصل الكروماتوغرافية لتقدير بعض المركبات الفعالة في الزيت الطيار بوصف هذه الطريقة من الطرق الحديثة والفعالة لكفاءتها العالية من حيث دقتها وسرعتها وتم ذلك حسب الطريقة المستخدمة من قبل (10).وباستخدام المواصفات التالية:-

- الطور المتحرك (Mobile Phase) :- (40:60) Acetonitrate: 1% acetic acid in deionized water
- معدل الجريان Flow Rate :- 1 مليلتر/دقيقة.
- عمود الفصل Column of Separation :- C-8 (25 cm × 4.6 mm) Partical size 10µm
- الكاشف (Detector) :- U.V set at 254 nm
- درجة الحرارة (Temperature) : 35^0 C.

تم التشخيص اعتماداً على نماذج قياسية مثل α- Pinene ، Camphor ، Myrecene ، Terpinolene, Carviol ، Methylcinnamate ، Carvone ، Linalool ، Eugenol ، Coumarin ، β- Caryophilline ، Geranial ، Methylchavicol إذ حقن الجهـــاز بتراكيز معلومة مقدارها 5 مايكروغرام/ مليلتر لكل نموذج قياسي. حُسب زمن الاحتجاز ومساحات الحزم وكذلك ارتفاع الحزم للنماذج القياسية كلاً على حدة تحت ظروف الفصل المستخدمة في أعلاه بعد ذلك حضر محلول الزيت الطيار المطلوب تحليله وحقن في الجهاز تحت الظروف نفسها وحسب تركيز المركبات الموجودة في الزيت الطيار عن طريق مقارنة مساحات الحزم المجهولة للزيت الطيار مع مساحات الحزم المعلومة للمادة القياسية.

وتم حساب تركيز المركبات في الزيت الطيار وفق المعادلة الاتية:-

$$\text{تركيز المركب في العينة} = \frac{\text{مساحة حزمة المركب}}{\text{مساحة حزمة النموذج القياسي}} \times \text{تركيز النموذج القياسي}$$

5- دراسة الفعالية التثبيطية للزيت الطيار المستخلص من أوراق نبات الريحان في الأحياء المجهرية الاختبارية:-

أمكـــن الحصول علـــى عزلات مشخصـــة مـــن بكتريا *Staphylococcus aureus*، *Salmonella typhi*

، *Escherichia coli* ، *Aeromonas hydrophila* ، *Serratia marcescens*، *Vibrio cholerae*، *Klebsiella pneumoniae* وخميرة *Candida albicans* من مختبر الصحة المركزي حفظت العزلات بزرعها على سطح وسط الاكار المغذي المائل (Slant)، حضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة وحفظت بدرجة حرارة 4 م لحين الاستخدام.

أستخدمت طريقة الانتشار في الحفر (Agar well diffusion method) لملاحظة تأثير مستخلص الزيت الطيار في نمو الأحياء المجهرية اذ تم عمل حفر داخل وسط الاكار المغذي بعد تلقيحه بـ(0.1) مليلتر من عالق الأحياء المجهرية والحاوي على (1.5×10^8 خلية/مليلتر) كلاً على حدة ووضع داخل كل حفرة (0.1) مليلتر من مستخلص الزيت الطيار بعد تخفيفه بنسبة 50% بالمذيب العضوي (D.M.S.O) Dimethyl sulfoxide مع بقاء حفرة كسيطرة تحوي على مذيب D.M.S.O فقط , حُضنت الأطباق عند درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة وبمعدل ثلاث مكررات لكل عزلة , حددت فعالية المستخلص بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل حفرة بالمليمتر وتم حساب المعدل للمكررات الثلاثة (11).

6- تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) لمستخلص الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان:-

حُضرت سلسلة من التخافيف النصفية من الزيت الطيار بلغت قيمتها (10 ، 5 ، 2.5 ، 1.25 ، 0.625 ، 0.312 ، 0.156) % حجم/حجم وقد استخدم وسط (T.S.B) Trypton soy broth لأجراء التخافيف. أُضيف 0.1 مليلتر من عالق الأحياء المجهرية قيد الدراسة وكلاً على حدة والحاوي على (1.5×10^6 خلية/مليلتر) إلى الأنابيب جميعها . رجت الأنابيب جيداً وحضنت عند درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة في حاضنة هزازة. قرأت النتائج على أساس ملاحظة العكورة بعد مقارنتها بالسيطرة سيطرة رقم (1) عبارة عن الوسط فقط ملقح بالبكتريا, سيطرة رقم (2) عبارة عن الوسط مع الزيت الطيار فقط. تلغى التجربة في حالة عدم ظهور عكورة في السيطرة رقم (1) وفي حالة ظهور عكورة في السيطرة رقم (2) وحُددت قيمة MIC وذلك بأخذ 0.1 مليلتر من الأنابيب التي لم تُظهر أي عكورة ونشره على سطح وسط الاكار المغذي بواسطة ناشر زجاجي معقم , حُضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة, وسُجلت النتائج على أساس وجود النمو (+) بأقل عدد من المستعمرات , وحددت قيمة MBC وذلك بأخذ 0.1 مليلتر من الأنابيب المحضرة والتي تكون بعد أنبوبة MIC وتنشر على سطح وسط الاكار المغذي بواسطة ناشر زجاجي معقم وتحضن عند درجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة وسُجلت النتائج على أساس وجود النمو (+) أو عدم وجوده (-) (12).

النتائج والمناقشة

يوجد العديد من النباتات التي تمتلك فعالية ضد المسببات المرضية والأمراض وتستخدم في مجال الطب، وتعددت الدراسات وتنوعت حول استعمال مستخلصات هذه النباتات في تثبيط وقتل الأحياء الدقيقة وبرزت الأهمية الطبية والاقتصادية للزيوت الطيارة نتيجة لاستعمالاتها الواسعة في مجالات عديدة إذ تعد ذات مردود اقتصادي كبير ومهم (3).

أستخلص الزيت الطيار من أ وراق نبات الريحان بواسطة جهاز التقطير بالبخار (كلافينجر) ووجد أن أوراق الريحان تحتوي على زيت طيار بنسبة 0.6%. إذ أشار (13) أن نسبة الزيت الطيار تختلف بشكل ملحوظ بين أصناف الريحان المختلفة

الصفات الفيزياوية للزيت الطيار المستخلص من أ وراق نبات الريحان

- **الرائحة**

تميز الزيت الطيار للريحان برائحة عطرة مميزة ويعزى ذلك إلى احتواءه على بعض المركبات ذات الاوزان الجزيئية الصغيرة مثل الكحولات، الاسترات، الفينولات والمركبات الاوكسجينية والتي تتصف بالتطاير السريع عند درجة حرارة الغرفة (9).

- **اللون**

تميز الزيت الطيار للريحان بلون اصفر باهت وتختلف الزيوت الطيارة في درجة الوانها الطبيعية فأما أن تكون عديمة اللون أو صفراء باهتة كما في الزيت الناتج من ثمار الكزبرة والينسون، زرقاء أو زرقاء مخضرة كما في الزيت العطري الناتج من البابونج والقمم الزهرية للآشيليا (9).

- **الطعم**

تميز الزيت الطيار لنبات الريحان بطعم لاذع وقد ذكر(14) بان الزيوت العطرية تتميز بطعم يتراوح ما بين الحلو، الحار, اللاذع والحارق.

- **الإذابة**

وجد أن الزيت الطيار لنبات الريحان لا يذوب في الماء ولكن يذوب في بعض المذيبات العضوية مثل الايثانول، الهكسان، الايثر، الكلوروفورم و الايثر النفطي . وبصورة عامة لا تذوب الزيوت الطيارة في الماء لاحتواءها على المركبات الهيدروكربونية فيما عدا بعض المواد الاوكسجينية قليلة الذوبان في الماء بنسب محدودة مما تكسبه رائحتها وطعمها (9، 14).

- **الكثافة النوعية**

بلغت الكثافة النوعية للزيت الطيار 0.9243 ، وتعتمد الكثافة النوعية على النوع والمصدر النباتي تبعا لمكوناته من المواد التربينية (9، 14).

- **معامل الانكسار**

أعطى الزيت الطيار لنبات الريحان قيمة لمعامل الانكسار بلغت 1.5155 وتعد هذه الصفة من الصفات المهمة لمعرفة نوعية ونقاوة الزيوت والدهون (15).

- **الدوران الضوئي**

أعطى الزيت الطيار لنبات الريحان قيمة دوران ضوئي بلغت (1.3-) مما يعني أن الزيت العطري يساري الدورة. وتتصف جميع الزيوت الطيارة بالدوران الضوئي تبعا لدرجة نقاوتها، قيمتها النوعية، خلوها من الزيوت الثابتة الأخرى (9).

الصفات الكيميائية للزيت الطيار لأوراق نبات الريحان .

- **رقم الحامض**

بلغت قيمة رقم الحامض للزيت الطيار لنبات الريحان 1.68 ويختلف رقم الحامض للزيت الطيار تبعا لمصدره من النوع النباتي والأجزاء الأخرى المتقطر منها (9).

- **رقم التصبن**

بلغت قيمة رقم التصبن للزيت الطيار لنبات الريحان 48.6 وتتميز الزيوت العطرية احتواءها على بعض الأحماض منخفضة المستوى بعكس الزيوت الثابتة التي تكون مرتفعة النسبة في معدلات هذه الأحماض (9).

- **رقم اليود**

بلغت قيمة رقم اليود للزيت الطيار لنبات الريحان 88.9، ورقم اليود عبارة عن كمية اليود المقدرة بالوزن التي يمتصها 100 جزئ بالوزن من الزيت، ويشير هذا الرقم إلى كمية الأواصر المزدوجة غير المشبعة في المادة الزيتية، أي بمعنى عدد غرامات اليود اللازمة لتشبع الأواصر المزدوجة غير المشبعة في تلك المادة أو عدد غرامات اليود اللازمة لتشبع الأواصر المزدوجة في 100 غرام من الزيت (9).

تشخيص بعض مكونات الزيت الطيار المستخلص من أوراق نبات الريحان باستخدام كروماتوغرافي السائل ذي الأداء العالي (HPLC)

أُعتمد في تقدير نوعية وجودة الزيوت الطيارة في السابق على الفحوصات الحسية عن طريق الشم والتذوق ودرجة اللون لوصف مركبات النكهة الطيارة في الزيت وكان يعتمد على لجنة تحكيم جيدة ومدربة (16). لكن استخدام الطرق الحديثة ومنها طريقة كروماتوغرافي السائل ذي الاداء العالي (HPLC) احدثت نقلة نوعية كبيرة في دقة التقديرات النوعية والكمية لهذه الزيوت وتعتمد هذه الطريقة على تقدير نوعية وكمية مركبات الزيت الطيار من خلال حساب تركيز كل مركب في العينة (17).

وجد من خلال التشخيص الأولي للزيت الطيار لأوراق نبات الريحان وجود 30 مركب طيار كما موضح في الشكل (1) وبمقارنة هذه المركبات مع ما تم الحصول عليه

من المركبات القياسية والتي تم تشخيصها في جهاز (HPLC) والمتضمنة المركبات المدرجة في جدول (1) وشكل (2) وقد تبين أن ما بين 30 مركب للزيت الطيار لأوراق نبات الريحان هنالك 13 مركب طيار مطابق تماما للمركبات القياسية والمبينة في الجدول (2)، وتم حساب تراكيز هذه المركبات اعتمادا على مقارنة مساحات الحزم المجهولة مع الحزم المعلومة للنماذج القياسية المتوفرة إذ وجد أن تراكيز المركبات في الزيت الطيار والمتضمنة (α-Pinene، Camphor، Myrecene ، Terpinolene، Carvone، Methyl cinnamate، Carviol، Coumarin، Eugenol، Linalool، β-Caryophilline، Geranial، Methyl chavicol كانت (328،105،192،314،90،124،172،306،59، 99،228،302،321) مايكروغرام/ميلتر على التوالي وبالمقارنة مع المراجع العلمية وجد أن تراكيز (Linalool، Eugenol، Methyl chavicol) في الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان هي مقاربة لما ذكره (18) إذ كانت (7-2،59-5،12-29)% على التوالي، بينما ذكر (19) أن تراكيز (Linalool، Camphor، Eugenol) في الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان كانت (32.6، 10.1، 28.1)% على التوالي وهي قريبة نوعا ما من تراكيز المركبات التي تم الحصول عليها من الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان في هذه الدراسة ، وان سبب التباين في تراكيز المركبات المذكورة في أعلاه قد يعود إلى اختلاف الظروف البيئية أو الطبيعية الجغرافية أو قد يعزى إلى تأثير بعض المعاملات الكيميائية في مدة الزراعة مما يؤدي إلى إحداث تغييرات كمية في بعض المركبات الموجودة في الزيت الطيار أو تحويلها إلى مركبات أخرى تدخل في تركيب الزيت إذ أن بعض مكونات الزيت الطيار يمكنها التحول من مركب إلى آخر من خلال فقدها لبعض الأجزاء المكونة لها أو إضافة جزء أخر لها (20) .

اختبار الفعالية التثبيطية لمستخلص الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان في الأحياء المجهرية الاختبارية :-

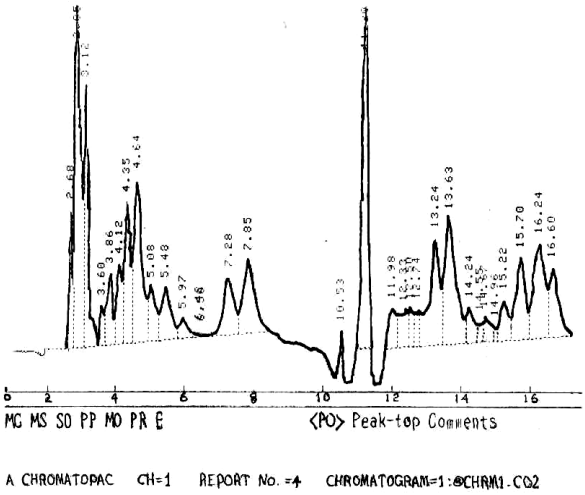
أختبرت فعالية الزيت الطيار تجاه عزلات البكتريا والخميرة قيد الدراسة وقد أظهرت النتائج أن للزيت الطيار تأثيراً مضادا لنمو الأحياء المجهري ـة جميعها المختبـرة جـدول (3) شكل (4,3)، وجد أن البكتريا الموجبة لصبغة كرام هي الأكثر تأثراً بالزيت الطيار إذ بلغ معدل قطر التثبيط لبكتريا *Staph. aureus* 21 مليمتراً, وقد يعزى هذا إلى كون طبقة الببتيدوكلايكان في البكتريا الموجبة لصبغة كرام معرضة أكثر للاتصال بالزيت الطيار فلا تمتلك البكتريا حماية من قبل أي مادة خارج هـذه الطبقـة (21).

أما بالنسبـة للبكتريا السالبـة لصبغة كرام فقد تباين تأثيـر الزيت الطيار في تثبيط البكتريا فقد كان افضل تأثيـر له على نمـو بكتريا *A. hydrophila* و *K. pneumoniae* إذ بلغ معدل قطر التثبيط 17 مليمتر لكل منهمـا, بينمـا كان التأثير اقل على نمو بكتريا *V. cholerae* و*Sal. typhi* إذ بلغ معدل قطر التثبيط 10, 12 مليمتر على التوالي, أما بـالنسبة لبكتريـا *E. coli* و *S. marcescens* فقـد كانت الأقل تأثراً بفعاليـة الزيت الطيـار إذ بلـغ معدل قطـر التثبيـط 7, 9 مليمتـر على التوالي. في حين كان تأثير الزيت الطيار تجاه خميرة *C. albicans* واضحاً فقد وصل معدل قطر التثبيط 14 مليمتر.

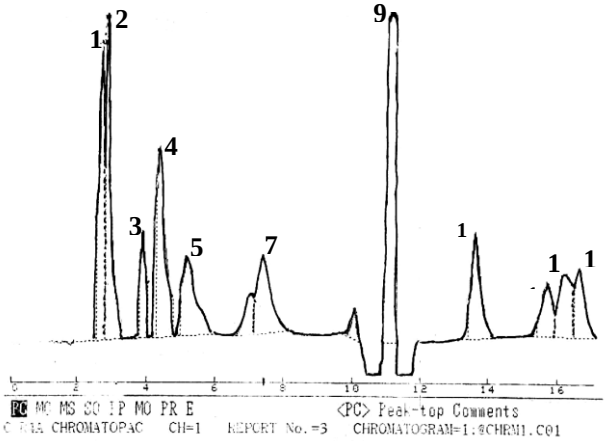
وتعزى قابلية هذا الزيت في تثبيط الأنواع البكتيرية والخميرة لكونه يحتوي على بعض من المركبات الفينولية (Eugenol) والتي لها فعالية مضادة للأحياء المجهرية وذلك عن طريق تثبيط آلية عمل الغشاء الخلوي للأحياء المجهرية وبالتالي تثبيط نمو الكائن المجهري (19) فضلاً عـن احتواءه علـى بعض م ـن المركبـات التربينيـة الأحادية (α- Pinene) التي تتداخل مع الأغشية السايتوبلازمية فتؤثر بالدرجة الأساس في إيقاف آلية النقل الفعال وعملية الفسفرة التاكسدية في البكتريا والخميرة إضافة إلى تثبيطها للتنفس في موقع السايتوكروم (b) والذي يعد جزء من سلسلة نقل الاليكترونات في خلية الخميرة (22) إضافة إلى أن التربينات الأحادية تكون محبة للدهون وكلما ازدادت هذه الصفة في الزيوت الطيارة كانت اكثر قابلية على الذوبان في الأغشية الخلوية وبالتالي كانت اكثر سمية للأحياء المجهرية (23).

تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) لمستخلص الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان

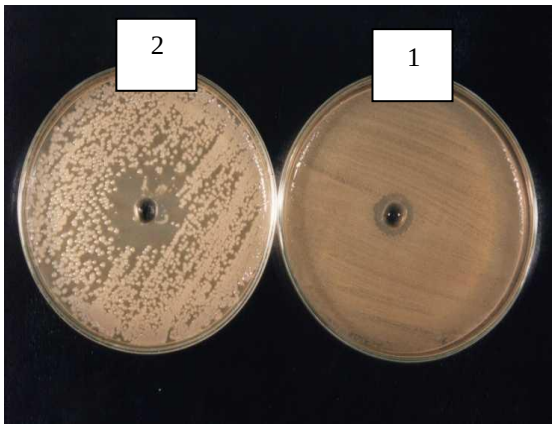
تم التحري عن قيم (MIC) و (MBC) للبكتريا والخميرة بتحضير التخافيف النصفية لمستخلص الزيت الطيار وكما موضح في الجدول (4). تراوحت قيم (MIC) لمستخلص الزيت الطيار ضد بكتريـا *Staph. aureus* ، *K. pneumonia* ، *S. marcescen* ، *A. hydrophila* ، *Sal.typhi* ، *V. cholerae* ، *E.coli* وخميـرة *C. albicans* ما بين (0.625 ، 1.25 ، 2.5 ، 1.25 ، 1.25 ، 1.25 ، 2.5 ، 1.25)% على التوالي فـي حين بلغ التركيـز القاتل الأدنى (MBC) مقدار (1.25 ، 2.5 ، 5 , 2.5 ، 2.5 ، 2.5 ، 5 ، 2.5)% على التوالي للأنواع المذكورة أعلاه ولوحظ أن بكتريا *Staph. aureus* هي الأكثر تحسسا مقارنة بباقي الأنواع , والشكل (5) يبين التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى على نمو بكتريا *E.coli* .



شكل (1) مخطط التحليل الكروماتوغرافي السائل ذي الأداء العالي (HPLC) للزيت الطيار المستخلص من أوراق نبات الريحان

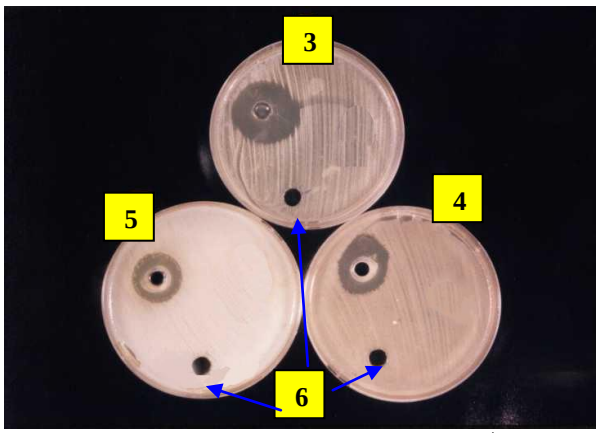


شكل (2) مخطط التحليل الكروماتوغرافي السائل ذي الأداء العالي (HPLC) لبعض المركبات الفعالة القياسية



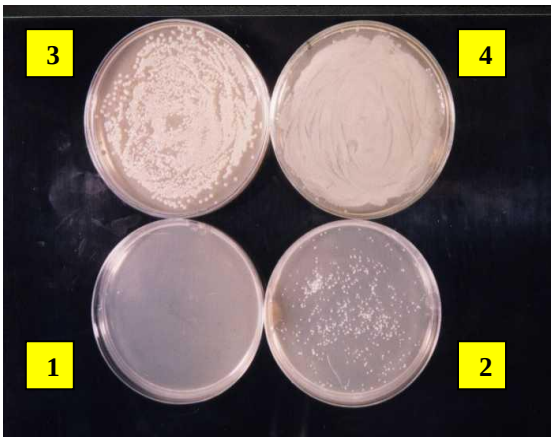
شكل(3) تأثير الزيت الطيار بتركيز 50% على نمو البكتريا الممرضة

1. بكتريا ***E.coli***
2. بكتريا ***A. hydrophila***



شكل (4) تأثير الزيت الطيار بتركيز 50% على نمو الأحياء المجهرية الممرضة

3. بكتريا **Staph. aureus**
4. بكتريا **K. pneumoniae**
5. خميرة **C. albicans**
6. سيطرة



شكل(5) التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى لبكتريا E.coli

1. **تركيز 5% من الزيت الطيار(التركيز القاتل الأدنى,MBC)**
2. **تركيز 2.5% من الزيت الطيار(التركيز المثبط الأدنى,MIC)**
3. **تركيز 1.25% من الزيت الطيار**
4. **تركيز 0.625% من الزيت الطيار**

جدول (1)

زمن احتجاز بعض المركبات الطيارة القياسية المشخصة في جهاز (HPLC)

المركبات القياسية	زمن الاحتجاز(دقيقة)	رقم القمة
α-Pinene	2.72	1
Camphor	2.863	2
Myrecene	3.886	3
Terpinolene	4.367	4
Carviol	5.179	5
Methyl cinnamate	7.035	6
Carvone	7.408	7
Methyl chavicol	10.014	8
Linalool	11.144	9
Eugenol	13.599	10
Coumarin	15.705	11
β-Caryophilline	16.258	12
Geranial	16.617	13

جدول (2)

تراكيز المركبات في الزيت الطيارالمستخلص من أوراق نبات الريحان

المركبات الموجودة في الزيت الطيار	التركيز مايكروغرام / مليلتر
α-Pinene	59
Camphor	603
Myrecene	172
Terpinolene	124
Carviol	90
Methyl cinnamate	413
Carvone	192
Linalool	105
Eugenol	328
Coumarin	321
β-Caryophilline	302
Geranial	228
Methyl chavicol	99

جدول (3)

تأثير الزيت الطيار بتركيز 50% المستخلص من أوراق نبات الريحان على تثبيط نمو العزلات البكتيرية والخميرة

الأحياء المجهرية	معدل أقطار التثبيط مقاسة بالمليمترات
Staph. aureus	21
Aeromonas hydrophila	17
Serratia marcescens	9
Klebsiella pneumoniae	17
Salmonella typhi	12
Vibrio cholerae	10
E.coli	7
Candida albicans	14

جدول (4)

قيم (MIC) و (MBC) لمستخلص الزيت الطيار لأوراق نبات الريحان

العزلات البكتيرية والخميرة	مستخلص الزيت العطري	
	MIC	MBC
Staph. aureus	0.625 %	1.25 %
Aeromonas hydrophilia	1.25 %	2.5 %
Serratia marcescen	2.5 %	5 %
Klebsiella pneumoniae	1.25 %	2.5 %
Salmonella typhi	1.25 %	2.5 %
Vibrio cholerae	1.25 %	2.5 %
E.coli	2.5 %	5 %
Candida albicans	1.25 %	2.5 %

المصادر

[1] كريم، فوزي محمد وقرعان، صالح احمد، (1986) النباتات الطبية في الاردن. جامعة اليرموك. اربد.

[2] الدبعي، عبد الرحمن سعيد والخليدي، عبد الوالي احمد (1996). النباتات الطبية والعطرية في اليمن، انتشارها، مكوناتها الفعالة، استخداماتها. مركز عبادي للدراسات والنشر. صنعاء اليمن.

[3] قطب، فوزي طه. (1981). النباتات الطبية زراعتها ومكوناتها. دار المريخ للنشر–الرياض–السعودية.

[4] B.M. Lawrnce, In developments of food seince, Flavors and fragrances: aworld perspective, E. D. B. M. lawrence. B. D. mookheyee and willis, B.J. 1988, p.160, Elsevier, Amsterdam. (C.F. Baritaux et al.,1992).

[5] M. R. Shedeed; K. M. EL-Gamassy; M. E. Hashim, and A. M. Kandeal, physiological studies on growth,oil yield and chemical constituents in basil plant, Ocimum basilicum L. Effect of some growth regulators on the vegetative growth. Annals-of- Agriculture - Seience, Ain-shams. Egypt. 35 (2): 1990, pp 971-979.

[6] E. Guenther, In the essential oils. Van No. Strand: New York Vol (2) 1952, p 506.

[7] British herbal pharmacopoeia. Determination of essential oils in Vegetable drugs, London App. 1996, pp 197-199.

[8] E. Guenther, Essential oils. Vol. I., R. E. Krieger publishing company, Hantington, New Yor, USA, 1972, p.18

[9] الشحات، نصر ابو زيد.(2000) الزيوت الطيارة. الدارالعربية للنشر والتوزيع، مصر.

[10] S. Bladt, and H.Wagner, Plant Drug analysis, Springer. N.Y., USA, 1996, pp.78.

[11] G.M. Vignolo; F. Suriani; A. P. Holgado and G. Oliver, Antibacterial activity of lactobacillus strains Isolated from dry fermented sausages. J.App.Bac. 75: 1993, pp 344-349.

[12] J. Wan; A. Wilcock and M.J. Coventry, The effect of essential oil of Basil on the growth of Aeromonas hydrophila and Pseudomonas fluorescens.J.App.Mic. 84: 1998, pp152-158.

[13] M. Marotti; R. Piccaglia, and Gio Vinelli, Differences in essential oil Composition of basil (ocimum bacilicum L.)Italian cultivars related to morphological characteristics. J.Agric food chem.44: 1996, pp 3926-3929.

[14] V.S. Venturella, Natural products In: Remington: The science and practice of pharmacy. (Edt, Gennaro, A.R.)20th ed. 2000, pp 434-43

[15] إحسان، سعد علي. (1999). دراسة بعض العوامل المؤثرة في الصفات الكمية والنوعية للزيوت العطرية في النعناع والبطيخ. أطروحة دكتوراه كلية الزراعة–جامعة بغداد.

[16] L.Y Sheen; Y.H.T. Ou and S.J. Tsai, Flavor characteristic compounds found in the essential oil of (Ocimum Basilicum L.) with sensory evaluation and statistical analysis.J.of Agric and Food Chemistry (USA) 39(5): 1991, pp 939-943.

[17] B.H. Chen; J.R. Vhuang; J.H. Lin and C.P. Chiu, Quantification of provitamin A compounds in Chinese Vegetables by high performance liquid chromatography, J. of Food Protection, V.56 (1) 1993, pp 51-54.

[18] J.E. Simon; J. Quinn, and R.G. Murray, Basil: A source of essential oils. 1990, pp 484-489 In: Janick, J. and Simon, J.E. (eds), Advances in new crops. Timber press, Portland, OR.

[19] A. Sartoratto; A. L. M. Machado; C. Delarmelina; G. M. Figueira; M. C. T. Duarte and V. L. G. Rehder, Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. J.Microbial. Vol.35no.4 São Paulo oct. /Dec. 2004.

[20] ساجدي، عادل جورج وعلي،علاء محي محمد. (1983). كيمياء الأغذية. الطبعة الاولى. مطبعة جامعة البصرة–العراق.

[21] S.C. Chao; D.G. Young, and C. J. Oberg, Screening for inhibitory activity of essential oil on selected bacteria,fungi and viruses. J.Essent. oil Res., 12: 2000, pp 639-649.

[22] J. A. Amaral; S. R. R. Ekins, and R. Knowles, Effect of selected monoterpenes on methan oxidation dintrification, and aerobic metabolism by bacteria in pure culture. App l. Envirom. Microbial. 64 (2) 1998, pp 520-525.

[23] C.M. Mann; S.D. Cox, and J.L. Markham, The outer membrane of Pseudomonas auruginosa NCTC 6749 contributed to its tolerance to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). Lett. Appl. Microbial., 30: 2000, pp 294-297.

Abstract

This study include extraction of volatile oil from *Ocimum basilicum* leaves with steam distillation method using clavenger devise, which was 0.6 %.

Volatile oil of the *O. basilicum* leaves had special aromatic odour, pale yellow color, slightly pungent taste, not dissolved in water, but it dissolved in some organic solvents like ethanol, hexane, ether and chloroform. The specific gravity, refractive index and optical rotation were (0.9243), (1.5155) and (– 1.3) respectively. Regarding the chemical properties, the acid number was (1.68), saponification number was (48.6) and the iodine number was (88.9).

The quantities and qualities of the volatile oil were estimated by the high performance liquid chromatography (HPLC) and it was found that it contained 30 volatile compounds, thirteen of them were recognized including α-Pinene, Camphor, Myrecene, Terpinolene, Carviol, Methyl cinnamate,Carvone, Linalool, Eugenol, Coumarin, β-Caryophilline, Geranial and Methyl chavicol with concentrations (59, 306, 172, 124, 90, 314, 192,105, 328, 321, 302, 228, 99) microgram / milliliter respectively.

The inhibition activity of the *O. basilicum* Volatile oil extracts were studied on some pathogenic microorganisms like *Staphylococcus aureus, Salmonella typhi, Escherichia coli, Vibrio cholerae, Aeromonas hydrophila, Serratia marcescens, Klebsiella pneumonia* and *Candida albicans.* Results showed that the volatile oil had an inhibition effect on the growth of all microorganisms, and it gave the higher inhibition effect on the growth of *Staph. aureus* in which the inhibition zone reached to (21) mm

The minimum inhibition concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of the volatile oil extract of the *O. basilicum* leaves were determined. The highest value of (MIC, MBC) with *Staph. aureus* was (0.625 , 1.25)%, while the lowest value of (MIC, MBC) with *S. marcescens* and *E. coli* were (2.5 and 5) % respectively.

Key word: -volatile oil, Ocimum basilicum, inhibition activity.