عزل وتشخيص مركب اليوجنول Eugenolمن الزيت الطيار لنبات الريحان Ocimum basilicum L.وتقييم فعاليته الضد بكتيرية

م.د. رشيد رحيم حتيت
كلية العلوم / جامعة ميسان

الخلاصة

تضمنت الدراسه الحاليه استخلاص الزيت الطيار من نبات الريحان Ocimum basilicum L.وعزل وتنقية وتشخيص مركب اليوجينول Eugenolمنه باستخدام بعض التقنيات الكيمائيه الطيفيه مثل كروماتوغرافيا الطبقه الرقيقه Thine Layare Chromatographyوعمود الفصل Colum chromatography وطيف الاشعه تحت الحمراء(IR) و طيف الكتله GC\Mass ،نقيت خلال الدراسة خمسة مواد كيميائيةحددت الفعاليه الضد بكتيريه لهده المواد تجاه ستة انواع من البكتيريا المرضيةهي E. coli, staphylococcus aureus, proteus vulegaris, Klebsella ،E.coli pneumonia,Salmonella typhimurium, Psedomonas aeruginosaوالتي اظهرت فعالية تثبيطية ضد بكتيريه عاليه وباقطار تثبيط مختلفه تراوحت بين 8.0-27.0ملم.كما تضمنت الدراسه الحاليه تحديد التركيز الثبط الادنى MIC لمركب Eugenol حيث كان اقل تركيز مثبط هو1.5مايكرو غرام/ مل تجاه البكتريياS.aureus بينما كان اعلى تركيز مثبط ادنى هو 6.5 مايكرو غرام/ مل تجاه كل من الانواع البكتيريه P.vulegaris, E.coli،P.aeruginosa. كما اختبرت السميه الخلويه للمركب المعزول والذي لم يظهر أي سميه عند التراكيز المختبره.

الكلمات المفتاحيه: الزيوت الطياره، االريحان ، اليوجينول ،الفعاليه الضد بكتيريه ،السميه الخلويه

المقدمة

تتواجد الزيوت الطياره بنسب قليله في النباتات ولكنها تمتلك فعاليه تثبيطية قويه (Akaluet٢٠١٣ al.,). وتتميز هذه الزيوت بانها تتبخر اوتتطاير دون تحللها عند تعرضها للحراره . تتواجد الزيوت الطياره بشكل واسع في المملكه النباتيه وتستخلص من اجزاء متعدده من النبات. وهذة الزيوت هي عباره عن مزيج معقد من المركبات والمكونات الرئيسيه لها هي التربينات الاحاديه(C_{10} Monoterpenes) والسسكوتيربينات Sesquiterpens(C_{15})وهي عباره عن هيدروكاربونات صيغتها العامه n

(C_5H_8).وتشير الدراسات الى ان هناك ما يقارب (1000) شكل تركيبي للتربينات الاحاديه و(3000) شكل تركيبي للسسكوتربينات .تتباين خصائص الزيوت الطيارة بالاعتماد على مكوناتها الكيميائيه والمركبات الداخله في تركيبها ، وهناك توازن بين مكونات الزيت المختلفه وذلك في اغلب النباتات كما ان فعاليتها الحيويه تنتج عن التاثير المشترك لكلا المكونات الفعاله وغير الفعاله الداخله في تركيب الزيت حيث ان المكونات غير الفعاله لها دور في امتصاص وانتشار وتفاعلات المكونات الفعاله للزيت (Limaet al., 2013;Zielińskaet al.,2014).للزيوت النباتية تاثيرات طبية متعددة حيث تمتلك فعالية مضادة للبكتريا وهدا ما اشارت اليه العديد من الدراسات منها (Neerajet al,.2013) والتي اشار فيها الى امتلاك الزيت الطيار المعزول من نباتMentha piperitaقدره تثبيطية تجاه بعض السلالات البكتيرية المرضية ، ودراسة (Saranyaet al.,2013) التي اشار فيها الى وجود بعض المركبات الكيميائية في الزيت الطيار لنبات اليوكالبتوزEucalyptusوتاثيرها المثبط لبعض السلالات البكتيرية .كما تستخدم في علاج امراض الجهاز البولي وتستعمل كذلك كمطهرات في علاج الجروح والقروح التي تحدث في الجلد وكمواد معقمة كما في الثوم والبصل (Dorman,1999)كما اشارت دراسات عديدة منها (Hayashi et al ;1995) الى امتلاك الزيوت المعزولة من بعض النباتات فعالية مضادة للفايروسات مثل الزيت المعزول من نبات Houttuyniacordata حيث تم اختبار فعاليتها ضد فايروسات virus simplex horpes و HIV-1,influenza وقد وجد ان الفعالية المضادة للفايروسات يمكن ان تحدث عن طريق التداخل الذي يحدث بين الزيت والغلاف البروتيني للفايروس بالاضافة الى ما تقدم فان الزيوت المعزولة من بعض النباتات يمكن استخدامها في علاج الامراض السرطانية وكمواد مانعة لعمليات التسرطن كما في الزيوت المعزولة من نبات حبة البركة Nigella sativa(Sean et al ;1997)

المواد وطرق العمل

عزل الزيت الطيار

عزل الزيت الطيارمن العينة النباتية (الاوراق) حسب طريقة Farag et al. (1989) و ذلك بمزج ٧٠ غم من العينة النباتية مع ٧٥٠ مل من الماء المقطر في دورق زجاجي سعته ٢ لتر، و تم تحضير الزيت بطريقة التقطير البخاري، جمع بعدها الزيت و فصل عن الماء بإستخدام قمع فصل بواسطة المذيب n-hexane، و بخر بعدها المذيب بإستخدام المبخر الدّوارRotary Evaporatorبدرجة حرارة ٤٠ ْم.بعدها تم حساب النسبه المئوية للزيت حسب المعادلة التالية.

$$\text{النسبة المئوية للزيت} = \frac{\text{وزن الزيت}}{\text{وزن العينة}} \times ١٠٠$$

الاختبارات الكيميائية التشخيصية للزيت الطيارلنبات الريحانO. basilicum

الكشف النوعي عن المركبات الفعالة في نبات الريحان.

تم الكشف عن المجاميع والمركبات الفعالة الموجودة في أوراق نبات الريحان وتضمنت الكشف عن التربينـاتTerpenoids، الفلافونويـداتFlavonoids،العفصـياتTannins، (Salkowski test) الكلايكوسـيدات,glycosides ،القلويـداتalkaloidsو الصـابونياتSaponins وفـق للطرائـق التـي ذكرهـا(Sofowora.,1993)والكشـف عـن السـتيرويدات Steroids وPhlobatannins بالاعتمـاد على(Edeoga.، et al.,2005)

استخدام كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة:Thin Layer Chromatography (TLC)

اسـتخدمت هذه الـتقنية فـي الكشـف الاولـي عـن المـواد الفعالـة الموجـودة فـي الزيت الطيار المستخلص من النبات قيد الدراسة اذ اسـتعملت صـفائـح السـليكا Aluminum silica gel بـقياس 1.5 × 6.5 سـم مطليـة بـهلام السـليكـا Silica gel GF243 , Merck بسمك 0.25ملم ، وبواسـطة انبوبـة شـعيرية حـمل 5مايكرو ليتر من الزيت الطيار بعـد إذابته فـي مـذيب مناسـب علـى بعـد 1 سـم مـن قاعـدة صـفائـح السـليكـا ، ووضـعت فـي حـوض زجاجـي مشـبع بأبخرة انـظمـة التصـعيد Petroleum ether: ethyl acetate بنسبة (1: ٢٠)وقبـل وصـول المـذيب الـى خـط نـهايـة الصـفيحة جـففـت الصـفائح بتعريضـها الـى تيـار هـواء جـاف وكشـف عـن البقـع بتعريضـها لـبخـار الـيـود وحسـبت قيمـة Retardation factor(Rf) حسـب الـقانـون الاتـي: (Harborne,1984).

$$Rf\% = \frac{\text{المسافة التي قطعتها المادة من منطقة البداية}}{\text{المسافة التي قطعها المذيب من منطقة البداية}} \times ١٠٠$$

فصل مكونات الزيت الطيار بعمود الفصل واختبار فعاليتها الضد بكتيرية

بـعـد تحـديد البقـع الظاهـرة علـى صـفائح TLCتـم فصـلهـا وتنقيتهـااذ اسـتعمل عمـود زجاجـي columnبـقيـاس 50 ×1.5سـم ومـلـئ بمـادة هـلام السـليكـا Silica gel G 60 (15 غـم)حمل الزيـت فـي عمـود الفصـل علـى سـطح السـليكـا وأنزلتبأنظمـة الفصـلPetroleumether:ethyl(20:1)وجمعـت الاجـزاء المفصـولة بأنابيـب زجـاجيـة واجريـت لـها فحوصـات التأكد من نـقاوة المـادة الفعالـة بواسطة TLCروماتوكرافيا الـطبقة الرقيـقـة واختـبرت فعاليتهـا الحيوية ضد البكتريا ووصفت المـواد المنقاة بالطرائـق الطيفية التشخيصية.

اختبار طيف الأشعة تحت الحمراء Infrared Spectrum (IR)

تم شخص طيف الأشعة تحت الحمراء للمادة بجهاز Infra Red Spectrophotometer نوع Pye unicam sp – 3 – 3005 – عند الأطوال الموجية (٢٠٠ – ٤٠٠٠) نانوميتر بطريقة Thin film.

اختبار طيف الكتلة GC Mass

أستخدم جهاز طيف الكتلة لتشخيص المواد الفعالة و لمعرفة وزنها الجزيئي و الصيغة الجزيئية و تركيبها الكيميائي وقد اجري هذاالفحص في جامعة اهل البيت في المملكه الاردنيه الهاشميه.

الفعالية الضد بكتيريه للزيت الطيارالمعزول.

أتبعت طريقة الأنتشار من الأقراص على الوسط الصلب Disk diffusion method اذ حضرت الاقراص المشبعة بالزيت الطيار اعتمادا على طريقة Saeed et al., (2007) حيث عملت أقراص بقطر6 ملم من ورق الترشيح ثم وضعت في قنينة زجاجية وعقمت بالفرن بدرجة حرارة 150°م ولمدة 60 دقيقة ،ثم شبعت الاقراص ب 10مايكروليتر/قرص ثم خزنت هذه الأقراص في الثلاجة لحين الأستعمال .وضعت الاقراص المشبعة على أطباق بتري حاوية على وسطMuller-Hinton (MHA) Agarوملقحة بـ0.1 مل من العالق البكتيري لكل سلالة من البكتريا.والمنشورة بواسطة ناشر زجاجي ،ثم حضنت الاطباق في الحاضنة وتحت درجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة بعدها فحصت الاطباق وقيست الفعالية التثبيطية بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص بالمليمتر .

تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC)للزيت الطيارالمعزول.

اتبعت طريقة Samuel et al.,(2011) وذلك باذابة ١٦ ملغم من الزيت الطيارفي٨ مل من المذيب العضوي Dimethylsulphoxide(DMSO) (100%) ليصبح تركيز المحلول 2000 مايكرو غرام/مل ثم حضرت سلسله من التخافيف (1000 و 500 و 250 و 125 و65 و 32.5 و 15و7 و3) مايكرو غرام /مل ومن ثم أخذ 2مل من كل تخفيف وأضيف إلى قناني حاويه على 18 مل من وسط MHA قبل تصلبه ليكون التركيز النهائي لكل قنينة (0.3 و 0.7و 1.5 و 3.1 و 6.5 و 12.5 و 25 و 50 و 100 و 200) مايكرو غرام/ مل ثم سكب محتوى كل قنينة في طبق بتري معقم وترك ليتصلب . لقح كل طبق بـ 0.1 مل من البكتريا المختبرة أي مايعادل 10^6خليه /مل والمنماة على وسط NB لمدة 24 ساعة

وحضـــــنت الأطباق بدرجـــــة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة ثم حدد التركيـــــز المثبط الأدنى على أساس أوطـــــــأ تركيز لايظهر فيه نمـــــو.

اختبار السمية الخلوية (تحلل كريات الدم الحمر) .

استخدمت كريات الدم الحمر للإنسان لحساب السمية الخلوية للزيت المعزول من النبات المختبر بالاعتماد على طريقة Xian – gno and Ursula (1994)، إذ تم سحب ٢ مل من دم الإنسان و وضع في أنبوبة حاوية على مادة مانعة للتخثر. تم تحضير التراكيز (٢٠، ٥٠، ١٠٠) مايكرو غرام/ مل من محلول الفوسفات المنظم الملحي PhosphateSaline Bufferللزيت و أستخدم معامل سيطرة سالب يحوي المحلول الملحي فقط و معامل سيطرة موجب (ماء الحنفية) تم بعدها وضع ٠,٨ مل من الزيت في أنبوبة معقمة و أضيف ٠,٢ مل من كريات الدم الحمر ليصبح الحجم ١ مل. حضنت الأنابيب في حاضنة بدرجة حرارة ٣٧ْم و لمدة ثلاث ساعات، فحصت بعدها الأنابيب لملاحظة تحلل كريات الدم الحمروبمعدل مكررين.

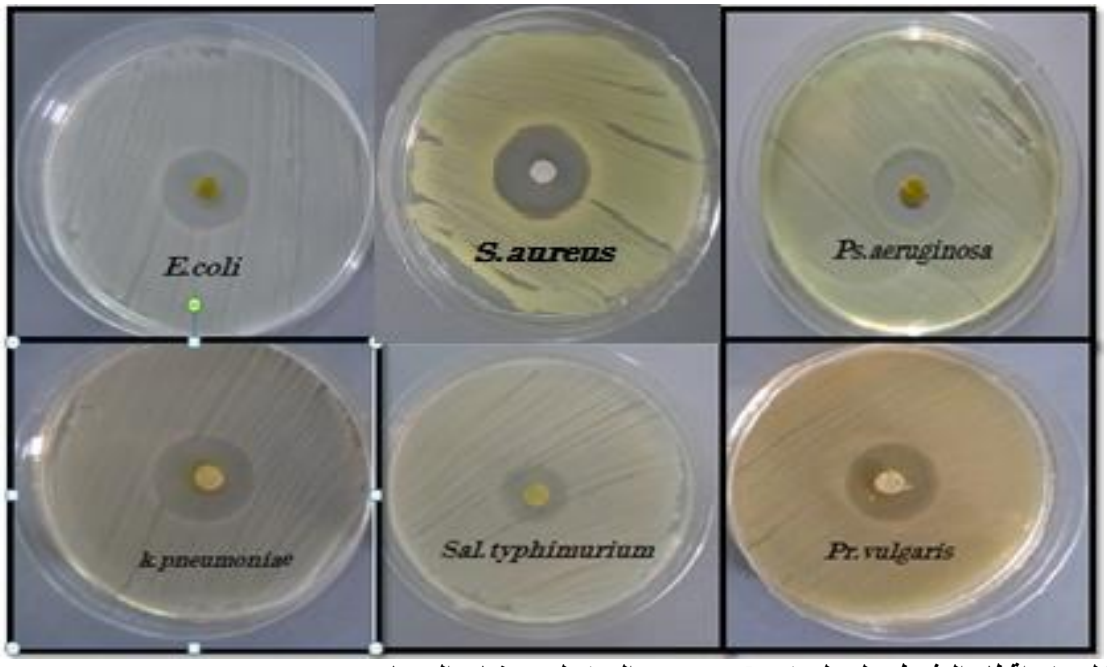
التحليل الإحصائي

أستخدم البرنامج الاحصائي الجاهز Statistical Package for social science SPSS (Version 11) لتحليل البيانات وباستخدام جدول تحليل التباين one –way ANOVA وتحت مستوى احتمال$P\leq 0.05$.

النتائج والمناقشة

وجد ان النسبة المئوية للزيت الطيار المعزول قدبلغت ١,١٨ %وهي تختلف عما توصل اليه (الصالحي ٢٠١٠) والتي بلغت 1.20 % وقد يعُود الاختلاف في النسب لاختلاف الظروف البيئية للنبات (أبوضاحي. 1989) . وأظهرت الكشوفات إحتواء الزيت المعزول من اوراق نبات الريحان O. basilicumعلى القلويدات الستيرويدات والمركبات الفينولية والفلافونيدات و القلويات و الصابونيات و التانينات . جدول (1) .أظهرت نتائج الفصل للزيت الطيار قيد الدراسة باستخدام كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة أربعة بقع ذات قيم Rf 0.83 , 0.68 , 0.52 , 0.35 عنداستخدام نظام التصعيد Protoleum ether:ethyl acetate واستغرقت مدة 15 دقيقة وتم الكشف عنها بواسطة بخار اليود، وكذلك اظهرت النتائج باستخدام عمود الفصل عنتنقية أربعة موادهيA3 , A2 , A1 , A والتي أظهرت فعالية تثبيطه متباينة تجاه البكتريا المختبرة واتضح وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال $p\leq 0.05$كما اظهرت النتائج ان الزيت الطيار المعزول من نبات الريحان O. basilicumيمتلك فعاليه عاليه ضد البكتريا الموجبه والسالبه لصبغة غرام قيد الدراسة. وقد اظهرت المادة A اعلى فعالية تثبيطية تجاه العزلات

البكتيرية المختبرة مقارنة بالمواد الاخرى التي تم تنقيتها ولهذا السبب تم اجراء الاختبارات الطيفية التشخيصية عليها من اجل تشخيصها حيث اظهرت اعلى فعاليه تثبيطية ضد البكتريا K.pneumoniae وبقطر منطقة تثبيط مقدارها (29.5ملم) تلتها في ذلك البكتريا Pr.vulgarisوبمنطقة تثبيط مقدارها (27.0ملم) (شكل 1) (جدول٢) أن الفعالية الضد بكتيرية لهذا الزيت يمكن أن يعود إلى ما يحتويه هذا الزيت من المركبات الفينولية المعروفة بفعاليتها المضادة للبكتريا، إذ أشارت دراسات عديده منها دراسة Devendran and. Balasubramanian.(2011) ودراسة Unnithan et al.., (2013) إلى أن الزيت الطيار المعزول من نبات الريحان غني بمركب Eugenol الفينولي والذي يمتلك فعالية مضادة للبكتريا ، و ذكر الباحثين أن هذه المركبات تسبب التحطم الكامل للأغشية و الجدران الخلوية للبكتريا .



شكل (١) اقطار التثبيط (ملم) لمركب Eugenol المعزول من نبات الريحان

الكواشف	Alkaloid	Flavinoid	Tripeptinoid	Sapopnins	Tannin	Phenols	Steroid	Phlobatannin
النتيجة	+	+	+	+	+	+	+	_

جدول(1)الكشوفات النوعيه للزيت الطيار المعزول من نباتOcimum basilicum

البكتريـا المختبرة	E.coli	S.aureus	Ps.aeruginosa	Sal.typhimurum	K.pneumonia	P.vulegaris
المادةA	25.5	26.0	25.5	23.0	29.5	27.5
المادة A1	13.5	20.0	0.0	10.0	18.5	0.00
المادة A2	20.0	22.5	0.0	22.0	20.5	16.5
المادة A3	26.0	12.0	20.0	0.0	8.0	10.0

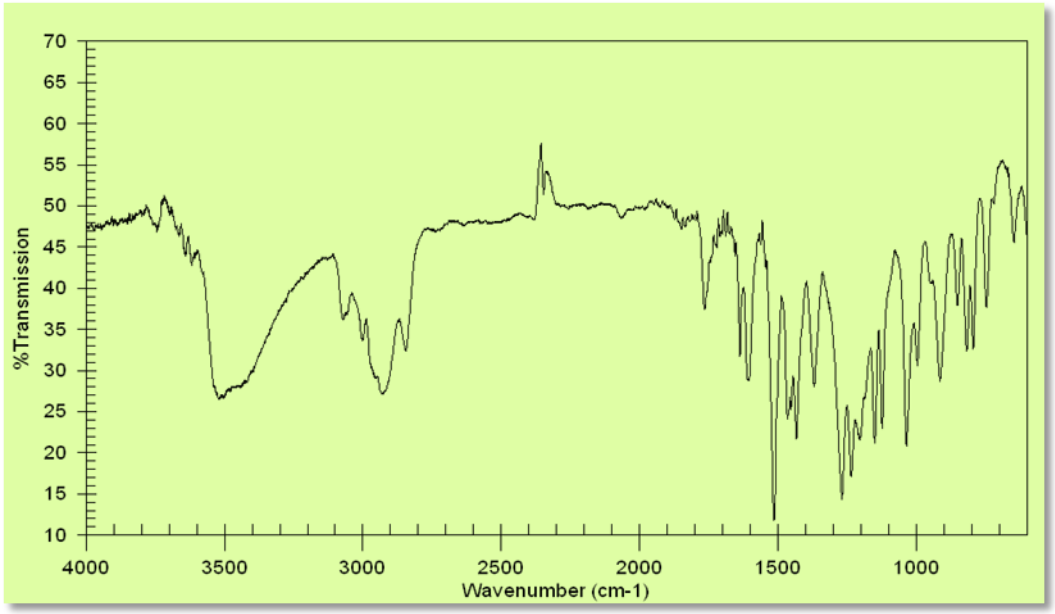
جدول(2) اقطار التثبيط للزيت الطيار العزول من نبات الريحان*Ocimum basilicum*

أقطار مناطق التثبيط تمثل معدل القراءة لثلاث مكررات

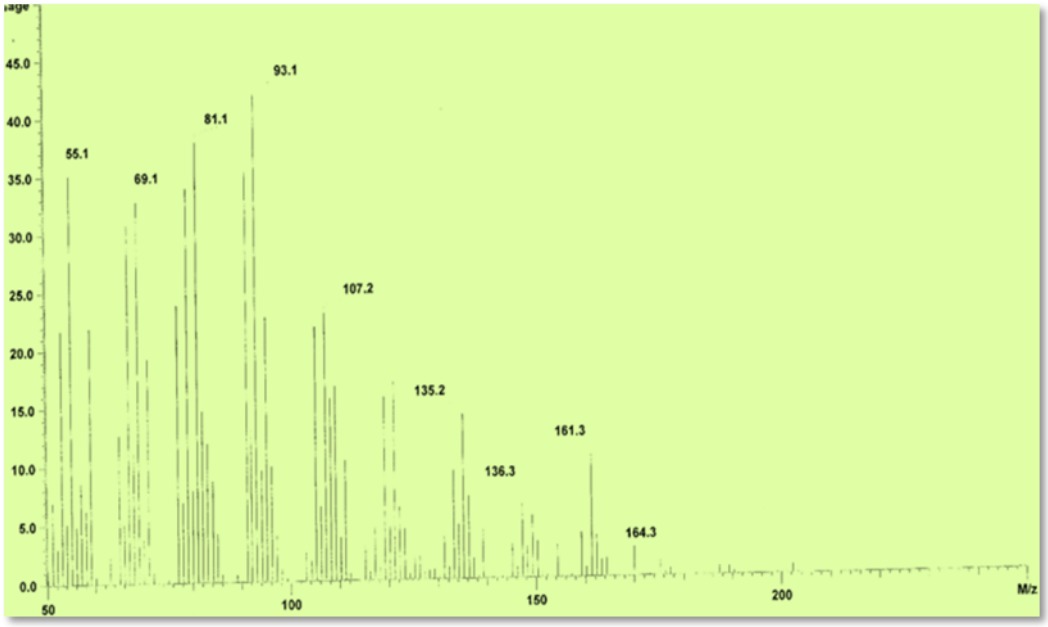
ويوضح الشكل (2) نتائج طيف الأشعة تحت الحمراء للزيت الطيار المعزول من نبات الريحانbasilicum.أما حزم الامتصاص و المجاميع التركيبية الفعالة فموضحة في جدول (٣).كما بينت نتائج طيف الكتلة للزيت الطيار المعزول من نبات الريحانbasilicum .بأن الوزن الجزيئي للمركب هو 164 دالتون الشكل (٣).واعتمادا على هده التقانات الكيميائية التشخيصية والرجوع الى المراجع الدراسية تم تشخيص المركب Eugenol(4-allyl-2-methoxyphenol)اليوجينول شكل (4) من الزيت الطيار لنبات الريحان في الدراسة الحالية والدي يمتلك فعالية تثبيطية تجاه البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة كرام (حتيت واخرون ٢٠١٣) و يعود السبب في ذلك إلى تركيبه الكيميائي العائد إلى مجموعة الفينولات (Alma et al., 2007) و التي لها تأثير قاتل للبكتريا و ذلك لأن الفينولات مركبات حلقية تتكون من حلقة أروماتية واحدة (C6) تحمل مجموعة واحدة أو أكثر من مجموعة الهيدروكسيل و التي لها خواص ضد مايكروبية (Lima et al., 2013;Zielińskaet al.,2014).و تتميز هذه المركبات بقابليتها على تكوين معقدات مع البروتينات يصعب هضمها إضافة إلى قدرتها على الإرتباط مع الإنزيمات وتثبيط عملها من خلال تفاعلها مع المجاميع ثنائية الكبريت في الإنزيم أو من خلال تفاعلات داخلية غير متخصصة مع البروتين(Mason and Wasserman, 1997).أن سمية المركبات الفينولية للأحياء المجهرية الدقيقة تعتمد على عدد المجاميع الهيدروكسيلية إذ كلما زاد عدد هذه المجاميع كلما زادت قدرتها السمية (Geissman, 1993).

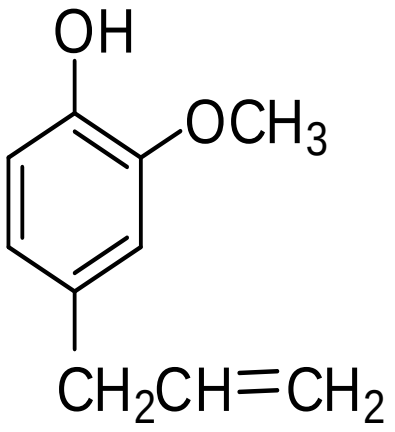
جدول (3) حزم الامتصاص و المجاميع التركيبية الفعالة العائدة لها في طيف الأشعة تحت الحمراء (IR)

المجاميع الفعاله	OH st	CH st	CH_3CH_2st	C=O st	CH b	C–O st	C–O st
حزم الامتصاص	3450	3000	2930	1630	1475	1280	1150



شكل (٢) طيف الأشعة تحت الحمراء Infrared Spectrum





شكل (٣) طيف الكتلة(GC/Mass) للمركب Eugenol

شكل (4) التركيب الكيميائي للمركب Eugenol (4-allyl-2-methoxyphenola)المعزول من نبات Ocimum basilicum

كماأكدت نتائج إختبارات التراكيز المثبطة الدنيا للزيت الطيار المعزول من نبات الريحان O. basilicum.بانه يمتلك فعالية مضاده لحميع العزلات البكتيريه المختبره إذ أظهر أقل تركيز مثبط للنمو والذي بلغ 1.5مايكرو غرام/ مل تجاه العزله البكتريا S.aureusتلاه في ذلك التركيز 3.5 مايكرو غرام/ مل ضد كل من العزله Sal.typhimuriumوبكتريا K.pneumoniae في حين اظهر التركيز 6.5 مايكرو غرام/ مل والذي يمثل اعلى تركيز مثبط ادنى فعالية مضاده تجاه كل من البكتريا P.aeruginosa، E.coli، P.vulgaris جدول(4).قد يعود تفاوت قيم التركيز المثبط الادنى الى الاختلاف في تركيب الجدار الخلوي للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام حيث أن جدران البكتريا السالبة لصبغة كرام بسبب احتواء جدارها على مركبات Lipopolysaccharides ، Lipoprotein و Protein-lipid بينما تمتاز جدران البكتريا الموجبة لصبغة كرام بمحتواها الدهني الذي يجعلها أكثر نفاذية للمركب الفعال ولذلك تكون أكثر تأثرا من البكتريا السالبة لصبغة كرام (Chandrashekhara,2010).ان نوعية المركبات الكيميائية المستخلصه وماتحويه من مجاميع فعاله لها قابلية الارتباط في مواقع خاصة ضمن الخلية المستهدفة تؤدي إلى التنوع فى قيم MIC ارتفاعا أو انخفاضا(الكامل،2005) .و أوضحت نتائج إختبار السمية الخلوية أن الزيت الطيار المعزول من نبات الريحان لم تحلل كريات الدم الحمر عند التراكيز المستخدمة إذ يعتمد تحلل كريات الدم الحمر على تركيز

المادة و مدة الحضن و درجة الحرارة و يحدث تحلل الدم نتيجة تحطم غشاء الكرية الحمراء بسبب الإرتباط التساهمي بين المواد السامة و الجذر الحر للبروتين(SH)(Sicinska et al., 2005).

جدول(4) التراكيز المثبطه الدنيا للزيت الطيار العزول من نبات الريحان(µg\ml)

البكتريا المختبرة	E.coli	S.aureus	Ps.aeruginosa	Sal.typhimurum	K.pneumonia	P.vulegaris
MIC	6.5	1.5	6.5	3.5	3.5	6.5

المصادر العربية

أبوضاحي،يوسف محمد . (1989) تغذية النباتات العملي .بيت الحكمة للطباعة والنشر،وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ،جامعة بغداد – العراق.

الصالحي،شيماء حاتم عبد الله. (2010) تشخُيص بعض مركبات الايضٌ الثانوي في نبات الريحانOcimumbasilicum L ودراسة الفعاليةٌ التثبيطية للزيت الطيار تجاه بعض أنواع البكتريا المرضية. الصالح،مجلة ديالى للعلوم ألزراعيه.1 (2:) 15 - 24 .

حتيت، رشيد رحيم وحمادي،كاظم جاسم ومحسن ،توفيق محمد(2013)عزل وتنقية وتشخيص مركب اليوجنول Eugenol من الزيت الطيار لنبات Sayzygium aromaticumودراسة فعاليتة الضد بكتيرية.مجلة ابحاث البصرة .العدد ٣٩: الصفحة ١٣٩-١٥٢.

المصادر الأجنبية

Alma, M. H.; Ertas, M. and Kollmannsberger, H. (2007). Chemical com position and content of essential oil from the Bud of cultivated Turkish clove (Syzygium aromaticum L.). Bio. Resources, 2 (2): 265 – 269.

Bouvier, F.; Suire, C. D.; Harligue, A.; Backhaus, R. A. and Gamra, B. (2000). Molecular cloning of geranyl diphosphate synthesis in plant cells. Plant J., 24: 241- 252.

Bhattacharyya, P .N. and Jha, D.K. (2011) . Optimization of cultural conditions affecting growth and improved bioactive metabolite production by a

subsurface aspergillus strain tsf 146 ,International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology ,2:133-143 .

Devendran,G and U, Balasubramanian .(2011) Qualitative phytochemical screening and GC-

MS analysis of Ocimum sanctum L. leaves. Asian Journal of Plant Science and Re-

search, (4):44-48 .

Dorman, H. J. and Deans, S. G. (1999). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plants volatile oils, J. Appl. Micro., 88: 308 – 316.

Farag, R. S.; Daw, Z. Y.; Hewedi, F. M. and El-Baroty, G. S. (1989). Antimicrobial activity to some Egyptian species essential oils. J. food prot., 52 (9): 665 - 669.

Faria, T. D. J.; Ferreira, R. S.; Yassumoto, L.; Souza, J. P. D.; Ishikawa, W. K. and Bardosa, A. M. (2006). Antifungal activity of essential oil isolated from Ocimum gratissimum L. (Eugenol chemo type). An international Journal, 6: 867 – 871.

Galambosi, B.; Svoboda, K. P.; Hampson, J. B. and Askawa, Y. (1999). Agronomical and phytochemical investigation of Pyenon themumofficinalis. Agric. Sci., 12 (4): 259 - 262.

Geissman, T. A. (1993). Flavonoid compound, tannins, lignins and related compound, P. 265. In florkin, M. and Statz, E. (ed) pyrde pigments, isoprenoid compounds and phenolic plant constituents, Elservier, New York.

Hayashi, K.; Kamiya , M.and Hayashi , T.(1995).Virucidal effect of the steam distillate from Houttunia cardata and its Componentson HIV-1 , influenza virus and: HSV. Planta .med.,61(3) : 1268-1271.

Lee, C. K. (1998). Screening and isolation of antibiotic resistance inhibitors from herb materials

Mason, T. L. and Wasserman, B. P. (1997). Inactivation of red beet betaglucan synthase by native and oxidized phenolic compound. J. Phytochemistry, 26: 2197 – 2202.

Nonsee,K., Supitchaya,C., and Thawien, W.(2011) Antimicrobial activity and the properties

of edible hydroxypropyl methylcellulose based films incorporated with encapsulated

clove(Eugenia caryophyllataThunb.) oil International Food Research Journal

18(4):1531 1541.

Neeraj, T.; prakash , A.; Sema ,Y.(2013). Antimicrobial activity and medicinal

values of essential oil of Mentha piperita L. Int .J. Engi. Innovat.

Technol. (IJFEIT) .V:2

Pengelly, A. (1995). The constituents of medicinal plants. 1st ed; CABI publishing: Singapore

Saeed, S. and P. Tariq. 2007. Antimi-crobial activities of Emblica officinalis and

Co riandrum sativumagainst Gram-positive bacte-ria and Candida albicans. Pak.

J.Bot.,39(3):913-917.

Samuel ,P., Prince ,L. and Prabakaran,P.(2011).Fungal bioproespecting from south east coast of tamilnadu - india with special reference to antibacterial activity .International Journal Of Pharma World Research, 2:1-14 .

Saranya ,s.; chandrasekaran ,N.; Mukberjee ,A(2013) Antibacterial activity

ofEucalyptus oil mirabilis-International of pharmacy and pharmaceutical Sciences .4.

Sicinska, P.; Bukowska, B.; Michalowic, J. and Duda, W. (2005). Damage of cell membrane and oxidative system in human erythrocytes incubated with microcystin- L R In vitro. Toxico., 47 (4): 187 – 197.

Unnithan C.R., Dagnaw W., Undrala S. and Subban Ravi.(2013)Chemical Composition
and Antibacterial activity of Essential oil of Ocimumbasilicumof Northern Ethi
opia . Int. Res. J. Biological Sci., Vol. 2(9), 1-4..

Xian – you, H. and Ursula, M. (1994). Antifungal compound from Soluum. Nigerscons, J. of Euthopharm, 43: 173 – 177.

Zielińska,S and Matkowski,A.(2014) Phytochemistry and bioactivity of aromatic and medicinal plants from the genus Agastache (Lamiaceae) Phytochem Rev .13:391–416.

Isolate and diagnosis of eugenol compound from volatile oil of Ocimum basilicum L. plant and assay its antibacterial activity.

Dr.Rashid Rahim Hateet

Department of Biology, College of Sciences, University of Misan, Iraq.
E-mail:biorashed@yahoo.com

Abstract

The current study included volatile oil extraction from the Ocimum basilicum isolate and purify the diagnosis composite Aleugenol, Using some chemical spectral techniques such as ThineLayare Chromatography(TLC),Infra-Red spectrum (IR) and Gas Chromatography Mass (GC\Mass)evaluated theantibacterial activity against six bacterial species E. coli, Staphylococcus aureus, Proteus vulegaris, Klebsella pneumonia , Salmonella typhimurium ، Psedomonas aeruginosa,which showed the antibacterial activity of the against bacterial high and inhibion of different diameters ranged between (8.0-29.5 mm).The current study also included identifying Minimum Inhibition Concentration(MIC) to Eugenolcompound,Where was less minimum inhibitory

concentration is (1.5µg\ml) against S. aureus, While the highest Minimum Inhibition Concentration(MIC) is (6.5 µg\ml) towards both bacterial species.E.coli,P.aeurginosa,P.vulgaris.It also tested the cellular toxicity of the compound ,Whichdid not show any toxic at theconcentrations tested.

Key word :Essential oils , Ocimum basilicum , Eugenol , Antibacterial activity , toxicity.