مقارنة التركيب الكيميائي والفعالية المضادة للبكتيريا للزيت العطري لأوراق نبات الغار *Laurus nobilis* L. من مواقع مختلفة

ساندي دوبا*[(1)] وأحمد شمس الدين شعبان[(2)] ونورس الأبرص[(3)] ويحيى قمري[(4)]

(1). قسم التقانة الحيوية، كلية الهندسة التقنية، جامعة حلب، حلب، سورية.
(2). قسم هندسة التقانات الحيوية، كلية الهندسة التقنية، جامعة حلب، حلب، سورية.
(3). الهيئة العامة للتقانة الحيوية (NCBT)، دمشق، سورية.
(4). مركز بحوث حلب، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.
(*للمراسلة: م. ساندي دوبا. البريد الإلكتروني: sandy_d14@hotmail.com).

تاريخ الاستلام: 2018/10/28 تاريخ القبول: 2018/12/21

الملخص

أجريت هذه الدراسة في الفترة الواقعة بين آذار 2017 وأيار 2018. استخلص الزيت العطري لأوراق نبات الغار المجموعة من مدينتي حلب والنبك خلال مرحلتي الإزهار وتشكل الثمار بطريقة التقطير المائي، وتم تحديد التركيب الكيميائي للزيت باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا الغازية المرتبط بمطياف الكتلة GC/MS. وحددت فعاليته المضادة للميكروبات تجاه أربعة أنواع من البكتيريا: *Pseudomonas aeruginosa*، *Escherichia coli* و*Klepsiella pneumoniae* (سالبة لصبغة غرام) و *Staphylococcus aureus* (موجبة لصبغة غرام) باعتماد طريقة التخفيف، باستخدام تراكيز مختلفة متدرجة من الزيت تراوحت بين 1 إلى 100 مكرولتر/مل. وتم تحديد التركيز الأدنى المثبط (MIC) والتركيز الأدنى القاتل (MBC). أشارت النتائج إلى أن المركب الرئيس في كلا الزيتين هو Cinole 1.8 بالإضافة الى مركبات رئيسة أخرى هي: Sabinene, α–pinene, β–pinene, Delta carene. امتلك الزيت المستخلص في مرحلة الإزهار فعالية حيوية أعلى مقارنة مع الزيت المستخلص في مرحلة الإثمار تجاه معظم الأنواع البكتيرية عدا النوع *P. aeruginosa* الذي أبدى مقاومة عند أعلى التراكيز المستخدمة. بالإضافة إلى ارتفاع الفعالية للزيت الناتج من عينات حلب مقارنةً مع عينات النبك.

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري، التقطير المائي، البكتريا الموجبة لصبغة غرام، التركيب الكيميائي، الفعالية المضادة للبكتيريا، الغار.

المقدمة:

لاقت المركبات الطبيعية المستخلصة من النباتات، مثل الجزيئات النشطة بيولوجياً، اهتماماً خاصاً من قبل الباحثين في مجال صحة الإنسان (Ratiba and Mohamed, 2016). ووفقاً لمنظمة الصحة العالمية فإن أكثر من 80% من سكان العالم يعتمدون على

الطب التقليدي لحاجات رعايتهم الصحية (Vital and Rivera, 2009). وتعدّ الزيوت العطرية مصدراً غنياً بالمركبات النشطة بيولوجياً (حيوياً). لذلك زاد الاهتمام بدراسة الخصائص الحيوية لمستخلصات النباتات العطرية ولاسيما الزيوت العطرية. نتيجة لذلك، كان من المنطقي التوقع بوجود مجموعة متنوعة من المركبات النباتية في هذه الزيوت والتي تمتلك خصائص مضادة للبكتيريا لاعتمادها كمضادات حيوية محتملة. وقد ازدادت أهمية ذلك بعد اكتساب البكتيريا الممرضة مقاومة ضد المضادات الحيوية التجارية نتيجة لاستخدام تلك المضادات بشكل مفرط، وهذا ما دفع الباحثين لإيجاد بدائل آمنة لها لمواجهة صفة المقاومة.

تعد سورية واحدة من المناطق الغنية بالأصول البرية لكثير من النباتات الطبية والعطرية والتي يتعرض بعضها لخطر الانقراض (غالية، 1998). ويعد الغار *Laurus nobilis* L. من أهم هذه الأنواع النباتية والذي ينتمي للفصيلة الغارية *Lauraceae* التي تضم العديد من النباتات الطبية والعطرية، وينمو هذا النبات على هيئة شجيرة دائمة الخضرة (Sampson and Jespersen, 1963)، تنتشر شجيرة الغار بشكل بري في معظم دول حوض البحر المتوسط وخاصة في القسم الجنوبي منه، وتستخدم بشكل واسع في الولايات المتحدة الأميركية وأوروبا كنباتات للزينة، وتزرع للاستفادة من الزيت العطري لأوراقها تجارياً في تركيا، والجزائر، والمغرب، والبرتغال، وإسبانيا، وإيطاليا، وفرنسا، والمكسيك (Özcan and Chalghatm, 2005). وتوجد في سورية في حالتها البرية في الجبال الساحلية في مناطق جوبة برغال والنبي يونس وشمال اللاذقية وكسب (Mouterd, 1966). تمتاز بأنها متعددة الأغراض، إذ تمتلك مواصفات تزيينيه مهمة كقابليتها للقص والتشكيل إضافة إلى شكلها الجميل ورائحتها العطرية (شلبي وآخرون، 2007)، كما تستخدم أوراق الغار طبياً لعلاج العديد من أمراض الجهاز الهضمي، ويستعمل زيته بشكل رئيس بعد تخفيفه بزيت الزيتون لتدليك العضلات والمفاصل (شوفالييه، 2005)، وكذلك في صناعة صابون الغار الحلبي. ونظراً للقيمة الاقتصادية لزيته العطري فقد ازداد الطلب العالمي على أوراقه إلى ما يزيد عن3000 طن سنوياً (Adriano, 2006).

يوجد عديد من الدراســات العالمية حول التركيب الكيميائي للزيت العطري للغار، وقد أظهرت أغلب الدراســات بأن المركب الرئيس لزيته العطري هو 1.8 cinole بتراكيز مختلفة بالإضـــافة إلى عدة مركبات رئيســـة أخرى مثل: sabinene، α–pinene، linalool، α–terpinyl acetate، β–pinene، methyl eugenol، carene، trans–ocimene، cis–ocimene، trans–caryophyllene والعديد من المركبات الثانوية (Chahal *et al.*, 2017). يعتمد تركيب الزيت العطري للغار على العامل الوراثي للنبات، كما يتأثر بعوامل عديدة مثل الحرارة والرطوبة (Milos *et al.*, 2001)، والمنطقة الجغرافية (Jemâa, 2012)، والارتفاع عن سطح البحر (Ben jemaa *et al.*, 2011)، وطريقة التجفيف (Sellami *et al.*, 2011).

أشارت نتائج العديد من الأبحاث العلمية الحديثة إلى التأثير الحيوي الفعال للزيوت العطرية المستخلصة من النباتات العطرية (Dadalioglu and Evrendilek, 2004, Adwan and Mhanna, 2008, Keskin *et al.*, 2010). ومنها زيت الغار الذي أظهر قدرة تثبيطية عالية على نمو مجموعة واسعة من السلالات البكتيرية المسببة لأمراض الإنسان مقارنة بزيت النعناع (Al–Hadi, 2011). كما أجريت في الجزائر دراسة للفعالية التثبيطية لبعض الزيوت المستخلصة من أوراق بعض النباتات الطبية العطرية الشائعة تجاه 20 نوعاً من السلالات البكتيرية، حيث كان الزيت العطري لأوراق الغار الأكثر فعالية في تثبيط نمو معظم الأنواع البكتيرية المدروسة عدا *Pseudomonas aeruginosa* (Ouibrahim *et al.*, 2013).

ولدى دراسة الفعالية الحيوية للزيت العطري لكل من الغار *L. nobilis* L. والآس *Myrtus communis* L. تجاه تثبيط نمو عدد من الأنواع البكتيريا الممرضة للإنسان تفوق الزيت العطري للغار على الزيت العطري المستخلص من نبات الآس (Cherrat *et al.,* 2014).

تقاس الفعالية الحيوية المضادة للبكتيريا بالعديد من الطرائق، وتعد طريقتا قياس قطر منطقة التثبيط (Disk diffusion) (Derwich *et al.,* 2009, Al-Hussaini and Mahasneh, 2011, Millezi *et al.,* 2012, Moghtader and Farahm, 2013) والتخفيف (Macro dilution) الأكثر شيوعاً، إذ تعد الطريقة الأخيرة طريقة بسيطة وسريعة وفعالة وتتطلب كميات قليلة جداً من الزيت العطري، وهي الأكثر شيوعاً في عديد من الأبحاث ذات الصلة (Erturk *et al.,* 2004, Erkmen and Özcan, 2008, Moghtader and Salari, 2012, Chmit *et al.,* 2014, Bag and Chattopadhyay, 2015).

هناك العديد من الأنواع البكتيرية الممرضة للإنسان من أهمها: الاشريشيا القولونية *Escherichia coli* وهي بكتيريا سالبة لصبغة غرام، لا هوائية عصوية الشكل. توجد عادة في أمعاء الكائنات الحية الدنيا ذوات الدم الحار (Singleton, 1999). معظم سلالات الاشريشيا القولونية غير ضارة ومتعايشة إلا أن بعض الأنماط المصلية يمكن أن تسبب التسمم الغذائي الحاد في مضيفها (Vogt and Dippold, 2005)، والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وهي بكتيريا موجبة لصبغة غرام، هوائية أو لا هوائية (اختيارياً)، كروية الشكل تجتمع على شكل عناقيد. كثيراً ما توجد في الأنف والجهاز التنفسي وعلى الجلد (Masalha, 2001). على الرغم من أن المكورات العنقودية الذهبية ليست ممرضة دائماً، إلا أنها تعد السبب الأكثر شيوعاً لاصابات الجلد مثل الخراجات والتهابات الجهاز التنفسي كالتهاب الجيوب الأنفية والتسمم الغذائي (Ogston, 1984). والكليبسيللا الرئوية *Klebsiella pneumonias* وهي بكتيريا سالبة لصبغة غرام، هوائية أو لا هوائية (اختيارياً)، عصوية الشكل. على الرغم من أن هذه البكتيريا توجد في الفلورا الطبيعية في الفم والجلد والأمعاء (Drew, 2004). إلا أنها يمكن أن تسبب تغييرات مدمرة في رئتي الانسان والحيوان إذا تم استنشاقها إلى الرئتين وتحديداً إلى الحويصلات الرئوية مما يسبب البلغم الدموي (Al-Rubaye *et al.,* 2017). وهناك الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* وهي بكتيريا سالبة لصبغة غرام، هوائية، عصوية الشكل، متحركة (تمتلك هدب قطبي وحيد) (Drew, 2004). تتسبب بأمراض نقص المناعة داخل المستشفيات، تصيب عادة الشعب الهوائية والمسالك البولية، والحروق، والجروح، وتسبب التهابات الدم الأخرى (Bucklingm *et al,* 2007).

رغم ازدياد الاهتمام العالمي بالمستخلصات النباتية في علاج الأمراض فإن الزيوت العطرية لكثير من النباتات الطبية البرية لم تدرس ولم تلق الاهتمام الكافي من الناحية الصحية والطبية ومنها زيت نبات الغار. ونظراً للأهمية الكبيرة للغار وكونه أحد مكونات الفلورا السورية ناهيك عن محدودية الدراسات عنه يهدف هذا البحث إلى تسليط الضوء على نبات الغار، بتقييم الفعالية الحيوية لزيته العطري المستخلص من أوراق مدينتي حلب والنبك تجاه الأنواع البكتيرية الأربعة السابقة، والكشف عن التغيرات الكيميائية والمضادة للبكتيريا تبعاً لاختلاف الموقع الجغرافي، ومرحلة النمو، وتحديد مرحلة النمو الأفضل للاستخلاص.

مواد البحث وطرائقه:

1-مواد البحث:

1-1- المادة النباتية: جمعت أوراق الغار من موقعين جغرافيين مختلفين من القطر العربي السوري (حلب والنبك)، خلال مرحلتي

الإزهار وتشكل الثمار في شهري آذار وأيلول 2017، وتمت عملية القطاف من كامل محيط الشجيرات.

1-2- الأنواع البكتيرية المستخدمة: تم الحصول على عزلات بكتيرية لأربعة أنواع من البكتيريا الممرضة للإنسان، ثلاثة منها سالبة لصبغة غرام وهي: *K. pneumoniae*، *P. aeruginosa*، *E. coli* وواحدة موجبة لصبغة غرام وهي: *S. aureus* من الهيئة العامة للتقانة الحيوية في دمشق مصنفة ومعرفة على أنها:

- متوسطة الحساسية للمضادات البكتيرية.
- معروفة العدد البكتيري بعد تنشيطها لمدة 18 ساعة، بحيث يكون العدد البكتيري الأولي للنوع *S.aureus* = 10^8 وللأنواع *K. pneumoniae*، *P. aeruginosa*، *E. coli* =10^9.

1-3- مواد الزرع: أطباق بتري بلاستيكية بقطر 9 سم، وأنابيب زرع، وماصات قياسية، وأوساط مغذية: المرق المغذي (Nutrient Broth)، والآغار المغذي (Nutrient agar)، ومادة استحلابية توين 20 (Tween 20)، وغرفة عزل، وحاضنة كهربائية.

1-4. التحليل الكروماتوغرافي: جهاز التحليل الكروماتوغرافي (GC/MS)، ومذيب عضوي من الهكسان، والغاز الحامل (الهليوم He).

2-طرائق البحث:

2-1. تقطير الزيت العطري:

جففت العينات الورقية في الظل حتى ثبات الوزن. تم الحصول على الزيت العطري من الأوراق بوضع 100غ من ورق الغار المجفف والمطحون في 1000 مل من الماء المقطر، وذلك ضمن جهاز تقطير كلافنجر لمدة 3 ساعات. وتمت معاملة عينات الزيت العطري المستخلصة بمادة كبريتات الصوديوم اللامائية، للتخلص من الرطوبة، وحفظ الزيت العطري في البراد عند 5° م لحين إجراء الاختبارات عليه (Erturk, 2006).

2-2-تحديد التركيب الكيميائي:

حدد التركيب الكيميائي للزيوت العطرية باستخدام جهاز GC (Agilent نموذج 7890A) المتوفر في مخبر الدراسات العليا في كلية العلوم بجامعة دمشق. المزود بمطياف الكتلة MS (Agilent نموذج 5975C).

تحليل الكروماتوغرافيا الغازية: تم حل الزيت بالهكسان، وأخذ 2 مكرولتر منه وتم حقنها في الجهاز يدوياً. استخدم عمود لا قطبي من النوع HP-5 (30 م × 250 µm × 0.25 µm)، والغاز الحامل هو الهيليوم، حيث التدفق 0.6 مل/دقيقة نسبة التجزئة 1:50، درجة حرارة الحاقن 280 س°، والبرنامج الحراري: درجة حرارة العمود البدائية 40 س° رفعت بعدها الى 100 س° بمعدل 5 س°/دقيقة ثم رفعت إلى 120 س° لمدة دقيقة واحدة بمعدل 5 س°/دقيقة ثم رفعت إلى 180 س° بمعدل 6 س° دقيقة ثم رفعت الى 200 س° بمعدل 20 س° /دقيقة ثم رفعت الى 220 س° بمعدل 30 س° /دقيقة ثم رفعت الى 280 س° لمدة دقيقة بمعدل 40 س° /دقيقة. وتبقى درجة الحرارة ثابتة على 280 س°. حددت المدة الإجمالية للتحليل 34.16 دقيقة.

وكان **التحليل بطيف الكتلة** كما يأتي: درجة حرارة مصدر الأيونات 230° س، ودرجة حرارة رباعي الأقطاب 150° س، ومجال المسح 50-650، وطاقة مصدر الأيونات 70 الكترون فولت.

حاسوب جهاز GC/MS مزود بمكتبة أطياف كتلة للمركبات العضوية الطبيعية بما فيها مكونات الزيت العطري، ومزود أيضاً ببرنامج لحساب النسب المئوية لوزن المكونات. كل قمة من قمم GC/MS تقابل مكوناً من الزيت العطري،و تم تسجيل أطياف الكتلة لكل القمم (المكونات) وتمت مقارنتها حاسوبياً بالأطياف المخزّنة في المكتبة.

2-3- اختبار الفعالية المضادة للبكتريا:

أجريت الاختبارات في مختبر التقانات الحيوية في مركز البحوث العلمية الزراعية بحلب وفق الآتي:

تم تنشيط البكتريا المختبرة لمدة 18 ساعة عند حرارة 37°س ضمن مستنبت المرق المغذي (NB)، وأجريت التخفيفات للبكتيريا المختبرة حتى 10^6 وتم تلقيح التراكيز المختلفة للزيت العطري للغار بحيث يكون العدد النهائي للبكتيريا 10^4 في حجم نهائي 1 مل بوجود التوين 20 بتركيز 0.001% كعامل استحلاب.

تحضير التراكيز المختلفة للزيت العطري للغار: أجريت التجارب الأولية لتراكيز واسعة المجال (1،5، 25، 50، 100) مكرولتر/مل، وحدد أدنى تركيز فعال ضد النوع البكتيري المختبر (لم تنم فيه البكتيريا) وأعلى تركيز غير فعال للزيت (نمت فيه البكتيريا)، وحضرت تراكيز جديدة محصورة بين هذين التركيزين/الحدين (الأدنى والأعلى).

حضرت 3 مكررات لكل تركيز كما تم تحضير شاهدين: الأول من البكتريا الممرضة دون إضافة الزيت إلى مستنبت المرق المغذي بوجود مادة الاستحلاب (التوين20)، والثاني مستنبت المرق المغذي مع التوين بدون البكتريا. حضنت الأنابيب لمدة 18 ساعة عند درجة حرارة 37 س°. تمت قراءة العكارة بصرياً في الأنابيب والتأكد من التأثير المثبط بأخذ 10 مكرولترات من المزيج المحضن وزرعها ضمن أطباق بتري تحتوي على مستنبت الآغار المغذي (NA) وتحضينها مدة 18 ساعة عند درجة حرارة 37 س° وملاحظة النمو.

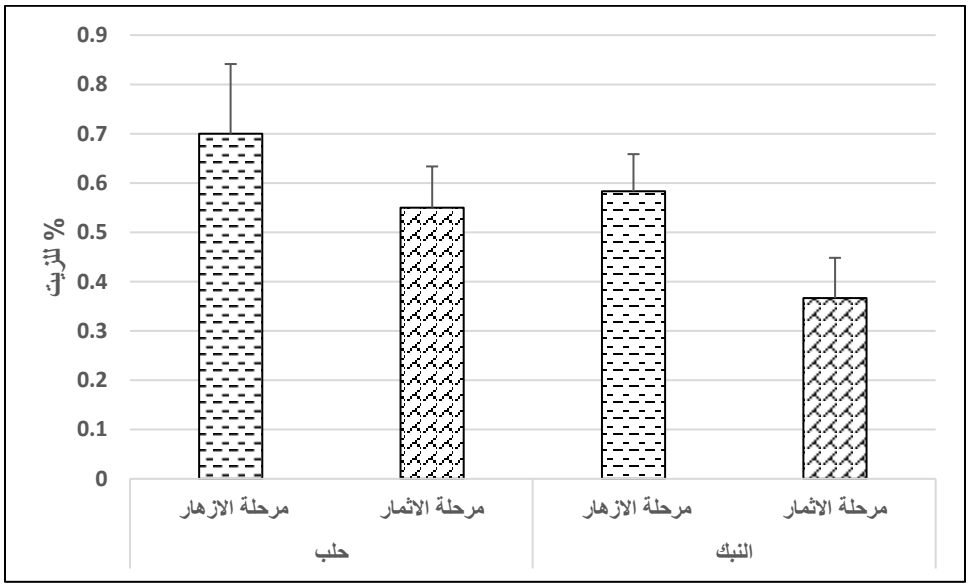
حُدد التركيز الأدنى المثبط Minimal Inhibitory Concentration(MIC) وفق المعيار التالي: بأنه التركيز الذي يكون عنده مستنبت المرق المغذي المختبر بعد 18 ساعة من التحضين شفافاً دون عكارة، وفي حال زرع عينة منه ضمن طبق يحوي مستنبت الآغار المغذي تنمو البكتريا، أما في حال عدم نمو البكتريا يكون هو التركيز الأدنى القاتل Minimal Bactericidal Concentration (MBC) (Rostami *et al.*, 2012).

النتائج والمناقشة:

1-استخلاص الزيت العطري: يتبين من الجدول (1) والشكل (1) وجود فروق معنوية في نسبة الزيت المستخلص في مرحلة الإزهار مقارنة بمرحلة تشكل الثمار لكل من منطقتي حلب والنبك على حدة، فقد بلغ متوسط نسبة الزيت المستخلصة من العينات الورقية المجموعة من مدينة حلب في فترة الإزهار بين 0.70 %، بينما انخفضت نسبة الزيت المستخلصة في فترة تشكل الثمار إلى 0.55 %. وبلغ متوسط نسبة الزيت المستخلصة من العينات الورقية المجموعة من النبك في فترة الإزهار 0.58% وانخفضت النسبة في فترة تشكل الثمار إلى 0.37%. توافقت هذه النتائج مع دراسة أجريت في إيران حيث انخفضت فيها نسبة الزيت العطري للغار في مرحلة تشكل الثمار إلى 0.6% مقارنةً مع نسبته في مرحلة الإزهار 1.1% (Verdian-rizi and Hadjiakhoondi, 2008). وأشار التحليل الإحصائي للنتائج إلى عدم وجود فروق معنوية في نسبة الزيت المستخلص في مرحلة الإزهار بين حلب والنبك، أما في مرحلة الإثمار فقد كانت نسبة الزيت أعلى وبفارق معنوي في ثمار حلب مقارنة بثمار النبك.

الجدول 1. بعض المؤشرات الإحصائية لنسبة الزيت العطري المستخلص من أوراق الغار المجموعة من حلب والنبك في مرحلتي الإزهار والإثمار خلال العام 2017

الموقع	حلب		النبك	
مرحلة النمو	الإزهار	تشكل الثمار	الإزهار	تشكل الثمار
المتوسط الحسابي	0.70	0.55	0.583	0.367
الانحراف المعياري	0.141	0.084	0.075	0.816
الخطأ القياسي للمتوسط	0.058	0.034	0.031	0.033
Tالمحسوبة	2.236		4.779	
المعنوية	0.048 ns		0.001 ns	
	الإزهار		الاثمار	
	حلب	النبك	حلب	النبك
tالمحسوبة	1.184		3.841	
المعنوية	0.105 ns		0.003 ns	



الشكل 1. متوسط نسبة الزيت في عينات الغار المقطوفة خلال مرحلتي الإزهار وتشكل الثمار من منطقتي الدراسة حلب والنبك

2-التركيب الكيميائي للزيوت العطرية المدروسة:

لوحظ تباين في عدد المركبات الكيميائية للزيوت العطرية التي تم الحصول عليها بنتيجة التحليل باستخدام جهاز إGC-MS إذ تم الحصول على 16 مركباً للزيت العطري لأوراق الغار المجموعة من حلب في مرحلة الإزهار و20 مركباً في مرحلة تشكل الثمار. أما الزيت العطري المستخلص من أوراق النبك فقد تم الحصول على 22 مركباً في مرحلة الإزهار و23 مركباً في مرحلة تشكل الثمار (الجدول 2). بلغت النسب المئوية للمركبات المدروسة في حلب لمرحلتي الإزهار وتشكل الثمار 95.11، 96.2 % على التوالي وفي النبك لمرحلتي الإزهار وتشكل الثمار 95.16 و84.88% على التوالي.

تميزت جميع الزيوت باحتوائها على نسب عالية من المركب 1,8 سينول (الأشكال 2 و3 و4 و5) والتي تراوحت بين (57.22-62.58)% وسابينين (9.25-14.28) % ونسب أقل من ألفا-بينين (3.65-5.04) %، وبيتا بينين (2.26-3.44) %، وديلتا-كارين (1.31-3) % كمركبات رئيسة. وكانت هذه النسب قريبة من الدراسة التي أجريت في لبنان والتي تراوحت فيها نسبة السينول من (57.05- 65.99) % والألفا بينين (3-6.03) % وبيتا بينين (2.51-4.17) % وسجلت الدراسة نسبة أقل للسابينين تراوحت

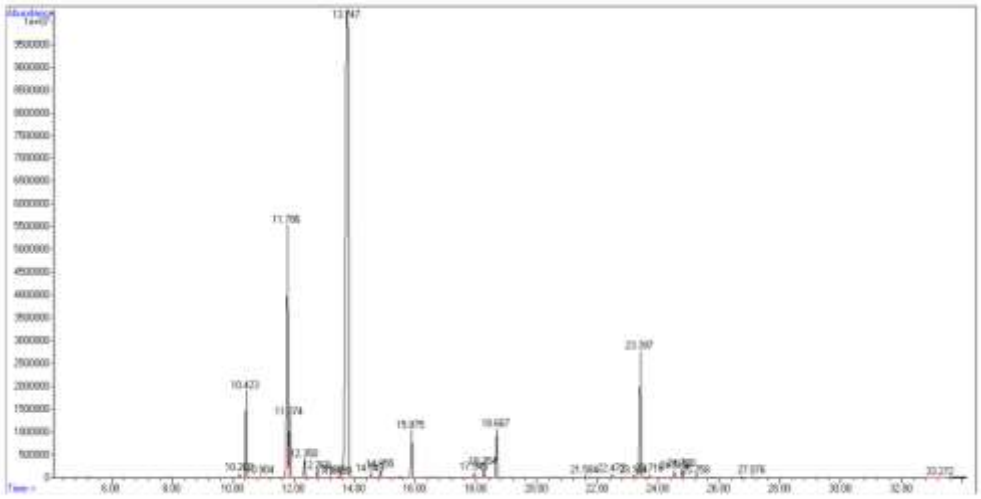
بين (4.06–9.77) % مع غياب للمركب ديلتا–كارين (Said and Hussrin, 2014). أما في دراسة أجريت في جنوب القوقاز فقد سجل السينول نسبة أعلى من نسبته في البحث وبلغت 66.01% مع غياب السابينين وظهور المركب ألفا–توجين كمركب رئيسي ثاني بنسبة 15.70% (Vardapetyan *et al.,* 2013). انخفضت نسبة السينول في دراسات أخرى الى 52.43% في المغرب (Derwich *et al.,* 2009) و 25.7% في إيران (Moghtader and Salari, 2012) بينما سجل أدنى نسبة له بدراسة في الهند إذ بلغ 0.29% (Choudhary *et al.,* 2013).

يلاحظ أيضاً من الجدول (2) انخفاض نسبة المركب 1.8 سينول في مرحلة تشكل الثمار بالمقارنة مع مرحلة الإزهار لكلا الزيتين وهذا يتوافق مع دراسة أجريت في إيران حيث انخفضت نسبته من 34.29% الى 30.80% بين المرحلتين (Shokoohinia *et al.,* 2014)، وقد يعود هذا الانخفاض إلى اختلاف مكونات الزيت العطري المستخلص تبعاً لمرحلة النمو فإنتاج الزيت العطري داخل الغدد النباتية يتأثر بالحالة الفيزيولوجية للنبات في كل مرحلة على حدة. حيث تعد مرحلة الإزهار مرحلة حرجة في نمو النبات، والانتقال منها إلى مرحلة تشكل الثمار عملية معقدة يحدث فيها تطورات مهمة (Sangwan *et al.,* 2001). ويلاحظ أيضاً انخفاض نسبة 1.8 سينول في موقع النبك مقارنة مع موقع حلب، وقد يعزى هذا الانخفاض إلى اختلاف الظروف البيئية في الموقعين ولا سيما الارتفاع عن سطح البحر وما يرافقه من تباين في الظروف المناخية. ففي دراسة أجريت لمقارنة تركيب الزيت العطري بين موقعين في تركيا وجد بأن نسبة السينول انخفضت بزيادة الارتفاع عن سطح البحر من 59.94 إلى 47.36% (Sangun *et al.,* 2007). وفي دراسة أخرى تمت المقارنة بين 7 مدن تركية وأظهرت النتائج بأن مدينة أنطاليا التي ترتفع 200 قدماً عن سطح البحر تمتلك نسبة أعلى من السينول 68.48% مقارنة بمدينة مرسين ذات الارتفاع 328 قدماً، حيث بلغت نسبة السينول في زيتها 57.58% (Özcan and Chalghatm, 2005) مما يدل على انخفاض تركيز السينول مع زيادة الارتفاع عن سطح البحر.

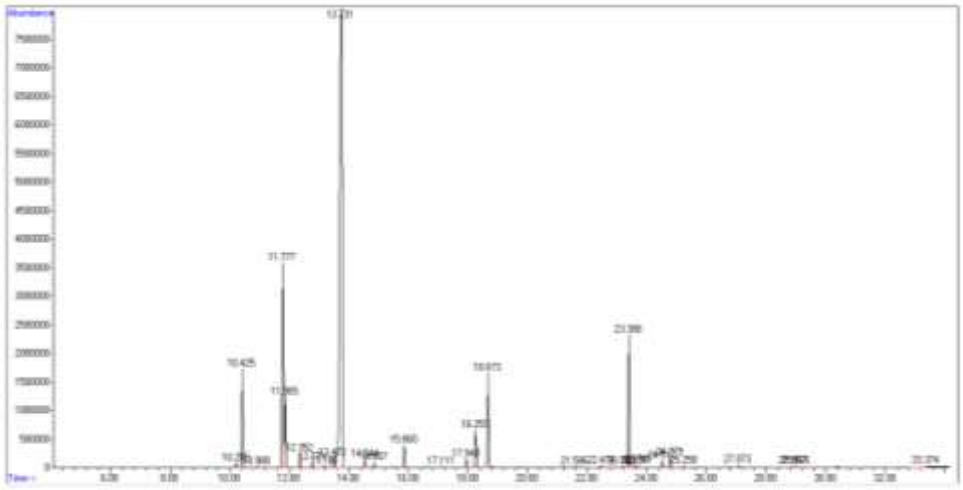
الجدول 2. التركيب الكيميائي للزيوت العطرية لأوراق الغار المجموعة من حلب والنبك خلال مرحلتي الإزهار وتشكل الثمار

النبك		حلب		المركبات (%)	
الإثمار	الإزهار	الإثمار	الإزهار		
57.14	60.01	57.22	62.58	1.8 Cinole	1
12.5	9.25	11.94	14.28	Sabinene	2
0.07		7.32	6.90	Limonene	3
3.65	3.97	5.04	4.04	Alpha.pinene	4
2.41	2.93	3.44	2.26	Beta.pinene	5
3	2.57	1.31	2.64	Delta.3-Carene	6
	0.17	0.21	0.2	I-Phellandrene	7
0.21	0.14	0.81	0.14	Benzene	8
0.10	0.73	0.52	0.09	Caryophyllene	9
0.57		0.73	0.89	Beta.myrcene	10
0.08	0.08	0.08	0.09	Camphene	11
0.56	2.66	0.45	0.38	Gamma-terpinene	12
0.32	0.22	0.51	0.30	Cyclohexane	13
			0.12	Acetaldehyde	14
			0.09	1.beta.,4.beta.H,10.BETA.H-Guaia-5,11-diene	15
			0.11	4-(2',6'-Dichlorophenylmethylene)	16
0.12				Beta.Guaiene	17
0.40	0.45	5.85		1,4 Cyclohexadiene	18

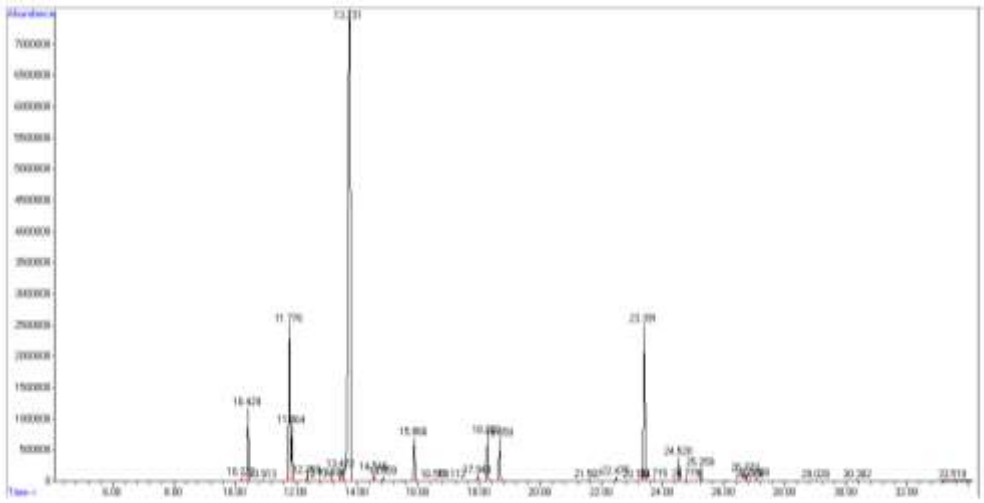
		0.06		Pinol	19
0.09		0.10		Eugenol	20
		0.15		Bicyclogermacrene	21
		0.11		Isolongifolene	22
		0.09		Pentacyclo	23
		0.26		Gibberellin	24
0.17	0.28			1,3,6-Octatriene	25
2.87	0.06			Beta-Phellandrene	26
	0.06			8-dienol	27
	9.44			4-isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexene	28
0.13	1.27			Beta.elemene	29
	0.42			1,6-Cyclodecadiene	30
	0.06			Beta.selinene	31
	0.23			Ledene	32
	0.10			Alloaromadendrene	33
	0.06			Eicosane	34
0.13				3-Hexene-1-ol	35
0.15				Alpha.Thujene	36
0.08				Myrtenal	37
0.06				2-Butanone	38
0.07				Trans-Caryophellene	39
84.88	95.16	96.2	95.11		المجموع



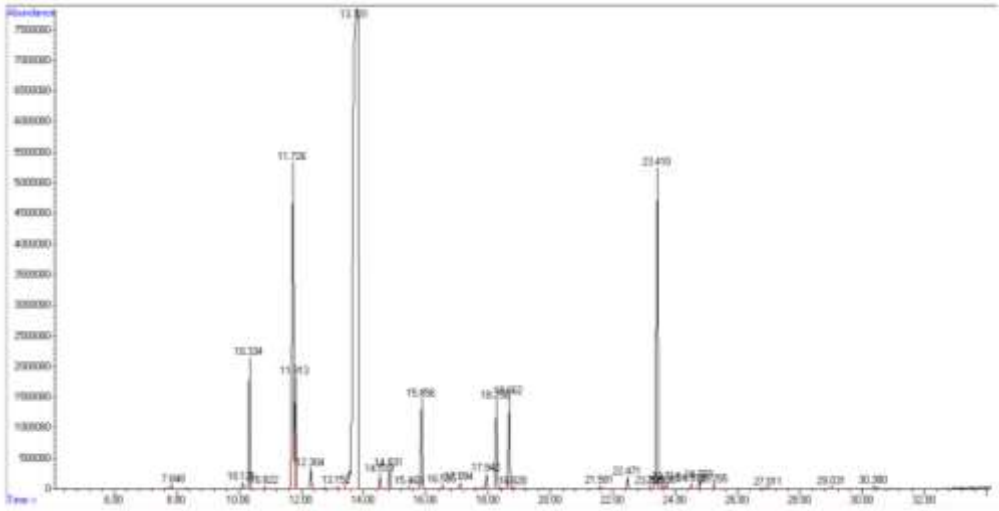
الشكل 2. مرتسم GC-MS لزيت غار مدينة حلب خلال مرحلة الإزهار



الشكل 3. مرتسم GC-MS لزيت غار مدينة حلب خلال مرحلة تشكل الثمار



الشكل 4. مرتسم GC-MS لزيت غار مدينة النبك خلال مرحلة الإزهار



الشكل 5. مرتسم GC-MS لزيت غار مدينة النبك خلال مرحلة تشكل الثمار

3-الفعالية المضادة للبكتريا: دلت النتائج أن الفعالية المضادة للبكتريا للزيوت المستخلصة كانت أقوى ضد البكتيريا الموجبة لصبغة غرام *S.aureus* مقارنة بالبكتيريا السالبة لصبغة غرام *K.pneumoniae*، *P.aeruginosa*، *E.coli*.

ويبين الجدول (3) قيم التركيز الأدنى القاتل (MBC) والتركيز الأدنى المثبط (MIC) للأنواع البكتيرية المختبرة، حيث وجد بأن هناك فعالية حيوية قوية ضد معظم الأنواع البكتيرية عدا النوع *Pseudomonas* الذي قاوم أعلى تركيز مستخدم.

الجدول 3. قيم التركيزين الأدنى القاتل والأدنى المثبط للزيت العطري لأوراق الغار على بعض الأنواع البكتيرية الممرضة (مكرولتر/ مل)

النوع البكتيري	حلب				النبك			
	فترة الإزهار		فترة تشكل الثمار		فترة الإزهار		فترة تشكل الثمار	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
Escherichia coli	4	4	13	14	7	8	9	10
Staphylococcus aureus	2.5	3	5	6	5.5	7	10	11
Klepsiella pneumoniae	30	35	55	60	40	45	60	65
Pseudomonas aeruginosa	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100

انخفضت قيمة التركيز المثبط الأدنى (MIC) والتركيز القاتل الأدنى (MBC) في مرحلة تشكل الثمار مقارنة بمرحلة الإزهار في كلا زيتي الموقعين (حلب، والنبك). كما أظهرت النتائج فعالية حيوية أقوى إجمالاً للزيت المستخلص من مدينة حلب مقارنةً مع زيت النبك. بالنسبة للزيت العطري المستخلص من مدينة حلب خلال فترة الإزهار، تطابقت قيمة التركيز المثبط الأدنى للنوع *E.coli* في البحث مع القيمة التي تم الحصول عليها في البرتغال للنوع نفسه 4 مكرولتر /مل (Ramos *et al.*, 2012). كما تقاربت هذه القيمة أيضاً مع نتائج دراسة أجريت في تركيا (Erturk, 2006) للنوع نفسه حيث بلغت 5 مكرولتر/ مل، بينما انخفضت قيمة (MIC) في هذا البحث للنوع *S. aureus* للنصف 2.5 مكرولتر/ مل مقارنةً بالدراسة السابقة والتي بلغت 5 مكرولتر/ مل. وفي الدراسة (Ouibrahim *et al.*, 2013) كانت نتيجة الفعالية الحيوية للزيت العطري المستخلص من أوراق الغار من المغرب متطابقة مع نتيجة فعالية زيت النبك في مرحلة الإزهار على النحو التالي MIC=5.4 للنوع *S. aureus*. بالنسبة لمرحلة تشكل الثمار فقد تطابقت MIC التي تم الحصول عليها في البحث لزيت النبك مع نتيجة الدراسة (Da Silveira *et al.*, 2014) حيث كانت قيمة MIC للنوع *S. aureus* تساوي 10 مكرولتر/مل. كما توافقت نتائج البحث مع الدراسة (Cherrat *et al.*, 2014) بالنسبة لحساسية البكتيريا *S. aureus* و*E. coli* للزيت العطري للغار ولكن بتراكيز مختلفة، وكذلك الأمر بالنسبة للدراسة (Goudjil *et al.*, 2015). توافقت نتائج دراسة أخرى (Rostami *et al.*, 2012) اتبعت فيها طريقة الأقراص مع نتيجة هذا البحث حيث وجد أن النوع *S. aureus* أكثر حساسية من *E. coli*.

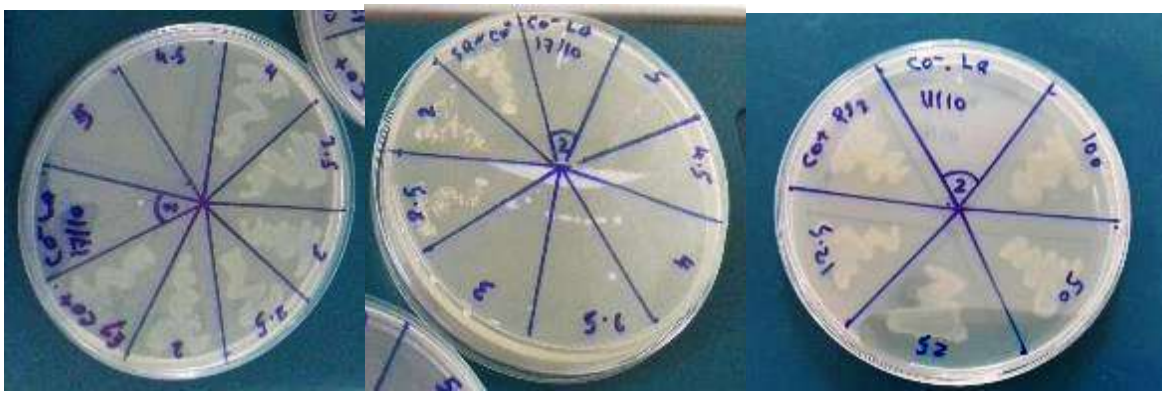
بالنسبة للنوع *K. pneumoniae* وبالعودة للجدول (3) والشكل (6) يلاحظ أنها أكثر مقاومة لفعالية الزيت من *S. aureus* و*E. coli* وهذا يتوافق مع نتائج الدراسة التي أجريت في المغرب حيث كان تركيز الزيت العطري للغار أعلى بالنسبة للنوع *K. pneumoniae* مقارنة مع *S. aureus* (Derwich *et al.*, 2009).

جميع الأنواع البكتيرية المختبرة في هذا البحث كانت حساسة وبدرجات متفاوتة للزيت العطري للغار عدا النوع *P. aeruginosa* الذي لم يتأثر بأعلى التراكيز المستخدمة، وهذا يتوافق مع النتائج التي وجدها Marino *et al.*, (2001); Ouibrahim *et al.*, (2013)، ويمكن تفسير آلية مقاومة هذا النوع للعديد من المضادات الحيوية والزيوت العطرية لطبيعة جداره الخلوي القليل النفاذية Dorman and Deans, 2000).

من المعروف بأن البكتيريا السالبة لغرام هي أكثر مقاومة للزيوت العطرية من البكتيريا الموجبة لغرام (Marino *et al.*, 2001, Lopez *et al.*, 2005) هذه المقاومة تعود إلى طبيعة الأغشية الخلوية للبكتيريا (Smith–palmer *et al.*, 1998).

كما تمت الإشارة فإن النشاط المضاد للبكتيريا للزيت العطري يعتمد على التركيب الكيميائي لهذا الزيت وتآزر هذه المركبات مع بعضها البعض، سواء كانت رئيسة أو ثانوية، إذ تعمل هذه المركبات بصورة عامة على إلحاق الضرر بالأغشية الخلوية من خلال تغيير درجة الحموضة والتوازن الأيوني لهذه الأغشية (Burt, 2004)، ويعرف المركب 1.8 سينول بامتلاكه فعالية قوية ضد عدة أنواع بكتيرية (Mitic *et al.*, 2009). كما أشارت عديد من الدراسات الى أن مركبات السابينين والألفا بينين والبيتا بينين تمتلك نشاطات مضادة للبكتيريا عن طريق تثبيط عملية التنفس الخلوي وزيادة نفاذية الخلايا (Cox *et al.*, 2001). ومن الجدير بالذكر بأن مركب الليناليول الذي ظهر في التركيب الكيميائي للعديد من الدراسات وكان غائباً في التركيب الكيميائي لأوراق الغار في هذا البحث، يمتلك نشاطاً قوياً ضد النوع *P. aeruginosa* وهذا ما قد يفسر عدم حساسية هذا النوع البكتيري للزيت المستخدم في التجارب (Bagamboula *et al.*, 2004).

إن الاختلاف بين التراكيز التي تم الحصول عليها في البحث وتراكيز الدراسات الأخرى يمكن رده من جهة إلى التنوع البيولوجي للبكتيريا المستخدمة ومن جهة أخرى إلى الاختلاف في التركيب الكيميائي للزيت العطري الذي قد يعود للتباين الوراثي الذي يمكن أن يظهر بين ضروب الغار المدروس في هذا البحث والطرز الوراثية للغار المدروس في بلدان أخرى، إضافة لتأثير الاختلاف في الظروف البيئية من حرارة ورطوبة وطول النهار والارتفاع عن سطح البحر، وهذه العوامل مجتمعة تؤثر على نمو النبات ونسب المواد الفعالة في الزيت العطري مما يعكس اختلافاً في الفعالية الحيوية (Al–Abrass *et al.*, 2015).



الشكل 6. صور الأطباق البترية التي توضح قيم MIC وMBC للزيت العطري المستخلص من مدينة حلب في مرحلة الإزهار تجاه 3 أنواع بكتيرية.

الاستنتاجات والتوصيات:

امتلك الزيت العطري لأوراق الغار المجموعة من مدينتي حلب والنبك فعالية مضادة للبكتيريا تجاه جميع الأنواع البكتيرية المدروسة عدا النوع *P. Aeruginosa* الذي قاوم أعلى تركيز مستخدم، وكانت فعاليته تجاه البكتيريا الموجبة لصبغة غرام مثل *S.aureus* أكثر من فعاليته تجاه البكتيريا السالبة لصبغة غرام. وأشارت نتيجة التحليل الكيميائي الى أن المركب الرئيس في كلا الزيتين المدروسين هو 1.8 Cinole بالإضافة الى مركبات رئيسة أخرى .Sabinene, α–pinene, β–pinene, Delta carene.

امتلك الزيت العطري المستخلص من أوراق الغار المجموعة من حلب تركيباً كيميائياً أفضل من الزيت المستخلص من تلك المجموعة من النبك، لذا ينصح باستخلاص الزيت العطري واستعماله في مرحلة الإزهار حيث يكون مردوده أعلى وفعاليته المضادة للبكتيريا أكبر.

الشكر:

يتقدم الباحثون بالشكر لمركز البحوث العلمية الزراعية بحلب، والهيئة العامة للتقانات الحيوية في دمشق، وكلية الهندسة التقنية في جامعة حلب، والدكتور غسان أبو شامة من كلية العلوم، جامعة دمشق، لتقديمهم يد العون والمساعدة العلمية.

المراجع:

شلبي، محمد نبيل والشمري سعد فرحان ومسلاتي كمال صالح نمازي علي عبد الرحمن (2007). الأشجار والشجيرات الحدائقية في مدينة أبها. مدينة الملك عبد العزيز للعلوم والتقنية معهد بحوث الموارد الطبيعية والبيئة. 648 صفحة.

شوفاليه، أندرو (2005). الطب البديل التداوي بالأعشاب والنباتات الطبية أكاديميا، 470 صفحة.

غالية، محمد يونس (1998). الدراسة الوطنية للتنوع الحيوي في الجمهورية العربية السورية. الطبعة الأولى، منشورات وزارة الدولة لشؤون البيئة، سورية، 367 صفحة.

Adriano, C.Z. (2006). World market in the spices trade. UNCTAD, Switzerland. Pp111.

Adwan, G.; and M. Mhanna (2008). Synergistic effects of plant extracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. Middle-East Journal of Scientific Research. 3(3): 134-139.

Al-Abrass, N.; R. Aleid; L. Al-Amir; and A. Badr Al-Deen (2015). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Achillia falcate* L. (Asteraceae). International journal of pharma tech Research. 7(1): 41-46.

Al-Hadi, L.M. (2011). The antibacterial activity of aqueous extract of peppermint and Bay leaf against *Staphylococcus aureus*. Journal of Baghdad College of Dentistry. 23(2): 146-150.

Al-Hussaini, R.; and A.M. Mahasneh (2011). Antibacterial and antifungal activity of ethanol extract of different parts of medicinal plants in Jordan. Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences. 108(397): 1-26.

Al-Rubaye, A.F.; M.J. Kadhim; and I.H. Hameed (2017). Characterization of antifungal secondary metabolites produced by *Klebsiella pneumoniae* and Screening of its chemical compounds using GC-MS. International Journal of Current Pharmaceutical Review and Research. 8(2): 141-148.

Bag, A.; and R.R. Chattopadhyay (2015). Evaluation of synergistic antibacterial and antioxidant efficacy of essential oils of spices and herbs in combination. PloS one. 10(7): 131-321.

Bagamboula, C.E.; M. Uyttendaele; and J. Debevere (2004). Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragole, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. Food Microbiology. 21: 33–42

Ben jemaa, J.M.; T. Nisrine; and L.K. Mohamed (2011). Composition and repellent efficacy of essential oil from *Laurus nobilis* against adults of the cigarette beetle *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). Tunisian Journal of Plant Protection. 6(1): 35-40.

Bucklingm, A.; F. Harrison; M. Vos; M. A. Brockhurst; A. Gardnerm; S.A. West; and A. Griffin (2007). Siderophore-mediated cooperation and virulence in *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiology Ecology. 62(2): 135-141.

Burt, S. (2004). EOs: their antibacterial properties and potential applications in foods. A review. International Journal of Food Microbiology. 94(1): 223-253.

Chahal, K. K.; M. Kaur; Bhardwaju; N. Singla; and A. Kaur (2017). A review on chemistry and biological activities of *Laurus nobilis* L. essential oil. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry. 6(4): 1153-1161.

Cherrat, L.; L. Espina; M. Bakkali; D. Garcia-Gonzalo; R. Pagan; and A. Laglaoui. (2014). Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. Journal of the Science of Food and Agriculture. 94(6): 1197-1204.

Chmit, M.; H. Kanaan; J. Habib; M.A. Bassam; A. Mcheik; and A. Chokr (2014). Antibacterial and antibiofilm activities of polysaccharides, essential oil, and fatty oil extracted from *Laurus nobilis* growing in Lebanon. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 7: 546-552.

Choudhary, D.; SP. Kala; N.P. Todaria; S. Dascupta; G. Kinhal; and M. Kollmair (2013). Essential oil from bay leaves in India and Nepal: An analysis for quality-oriented value chain development. International Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 3(1):11-17.

Cox, S.D.; C.M. Mann; J.L. Markham; J.E. Gustafson; and J.R. Warmington (2001). Determining the antimicrobial actions of tea tree oil. Molecules. 6: 87-91.

Da Silveira, S.M.; F.B. Luciano; N. Fronza; Jr. A. Cunha; G.N. Scheuermann; and C.R.W. Vieira (2014). Chemical composition and antibacterial activity of *Laurus nobilis* essential oil towards foodborne pathogens and its application in fresh Tuscan sausage stored at 7 C. LWT. Food Science and Technology. 59(1): 86-93.

Dadalioglu, I.; and G.A. Evrendilek (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandulastoechas* L.), and fennel *(Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 52(26): 8255-8260.

Derwich, E.; Z. Benziane; and A. Boukir (2009). Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 3(4): 3818-3824.

Dorman, H.J.D.; and S.G. Deans (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology. 88(2): 308-316.

Drew, W.L. (2004). Sherris medical microbiology. McGraw Hill, 4th ed, New York. 600.

Erkmen, O.; and M.M. Özcan (2008). Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen, and laurel on spoilage and pathogenic food-related microorganisms. Journal of Medicinal Food. 11(3): 587-592.

Erturk, Ö.; Ö. Kara; E. Sezer; and G. Şan (2004). Toxicity effect of some plant extracts on development of larvae of *Plutellaxy lostella* (L.) (*Lepidoptera; Plutellidae*). Ekoloji. 13(50): 18-22.

Erturk, Ö. (2006). Antibacterial and antifungal activity of ethanolic extracts from eleven spice plants. Biologia. 61(3): 275-278.

Goudjil, M.B.; S. Ladjel; S.E. Bencheikh; S. Zighmi; and D. Hamada. (2015). Study of the chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of the essential oil extracted from the leaves of Algerian *Laurus nobilis Lauraceae*. J Chem Pharm Res., 7(1): 379-385.

Keskin, D.; D. Oskay; M.U.S.T.A.F.A. Oskay (2010). Antimicrobial activity of selected plant spices marketed in the West Anatolia. Int. J. Agric. Biol., 12(6): 916-920.

Lopez, P.; C. Sanchez; R. Batlle; and C. Nerin (2005). Solid-and vapor-phase antimicrobial activities of six essential oils: susceptibility of selected foodborne bacterial and fungal strains. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(17): 6939-6946.

Marino, M.; C. Bersani; and G. Comi (2001). Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*. International Journal of Food Microbiology. 67(3): 187-195.

Masalha, M.; I. Borovok; R. Schreiber; Y. Aharonowitz; and G. Cohen (2001). Analysis of transcription of the *Staphylococcus aureus* aerobics class ib and anaerobic class III ribonucleotide reductase genes in response to oxygen. Journal of Bacteriology. 183(24): 7260-7272.

Millezi, A.F.; D.S. Caixeta; D.F. Rossoni; M.D.G. Cardosa; and R.H. Piccoli (2012). In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *Thymus vulgaris*, *Cymbopogon citratus* and *Laurus nobilis* against five important foodborne pathogens. Food Science and Technology (Campinas). 32(1): 167-172.

Milos, M.; A. Radonic; N. Bezic; V. Dunkic (2001). Localities and seasonal variations in the chemical composition of essential oils of *Satureja montana* L. and *S. cuneifolia* Ten. Flavour and Fragrance Journal. 16: 157.

Mitic, C.; D. Ulafic; B. Zegura; B. Nikolic; B. Vukovic-Gacic; J. Knezevic´-Vukcevic; and M. Filipic (2009). Protective effect of linalool, myrcene and eucalyptol against t-butyl hydroperoxide induced genotoxicity in bacteria and cultured human cells. Food and Chemical Toxicology. 47: 260–266

Moghtader, M.; and A. Farahm (2013). Evaluation of the antibacterial effects of essential oil from the leaves of *Laurus nobilis* L. in Kerman Province. Journal of Microbiology and Antimicrobials. 5(2): 13-17.

Moghtader, M.; and H. Salari (2012). Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and flowers of *Laurus nobilis* L. from Kerman province. Journal of Ecology and the Natural Environment. 4(6):150-153.

Mouterd, P. (1966). Flore du Liban et de la Syrie. 2^{end}ed, Dar El Mashreq, Beyrout Liban, 563.

Ouibrahim, A.; Y. Tltli-Ait-Kaki; S. Bennadja; S. Amrouni; A.G. Djahoudi; and M.R. Djebar (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. African Journal of Microbiology Research. 7(42): 4968-4973.

Ogston, A. (1984). On Abscesses Classics in Infectious Diseases. Rev Infect Dis. 6 (1): 122–28.

Özcan, M.; and J.C. Chalghatm (2005). Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves growing wild in Turkey. Journal of Medicinal Food. 8(3): 408-411.

Ramos, C.; B. Teixeira; I. Batista; O. Matos; C. Serrano; N.R. Neng; and A. Marques (2012). Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (*Lauraceae*) from Portugal. Natural Product Research. 26(6): 518-529.

Ratiba, G.; and N. Mohamed (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Laurus nobilis* leaves from Algeria. Asian Journal of Chemistry. 28(9): 25-30.

Rostami, H.; M. Kasemim; and S. Shafiel (2012). Antibacterial activity of *Lavandula officinalis* and *Melissa officinalis* against some human pathogenic bacteria. Asian Journal of Biochemistry. 7(3): 133-142.

Said, C.M.; and K. Hussrin (2014). Determination of the chemical and genetic differences of *laurus* collected from three different geographic and climatic areas in Lebanon. European Scientific Journal. 10(10).

Sampson, A.W.; and B.S. Jespersen (1963). California range brushlands and browse plants. 2^{end}ed, UCANR Publications, USA. 162.

Sangun, M.K.; E. Aydin; M. Timur; H. Karadeniz; M. Caliskan; and A. Ozkanm (2007). Comparison of chemical composition of the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves and fruits from different regions of Hatay, Turkey. Journal of Environmental Biology. 28(4): 731-733.

Sangwan, N.S.; A.H.A. Farooqi; F. Shabih; and R.S. Sangwan (2001). Regulation of essential oil production in plants. Plant Growth Regulation. 34(1): 3-21.

Sellami, I.H.; W.A. Wannes; I. Bettaieb; S. Berrima; T. Chahed; B. Marzouk; and F. Limam (2011). Qualitative and quantitative changes in the essential oil of *Laurus nobilis* L. leaves as affected by different drying methods. Food Chemistry. 126(2): 691-697

Shokoohinia, Y.; Yegdaneh, A.; Amin, G.; and A. Ghannadi (2014). Seasonal variations of *Laurus nobilis* L. leaves volatile oil components in Isfahan, Iran. Research Journal of Pharmacognosy. 1(3): 1-6.

Singleton, P. (1999). Bacterias: en biología, biotecnología y medicina/Bacteria in biology. Biotechnology and Medicine. 8(2): 515-579.

Smith-palmer, A.; J. Stewart and L. Fyfe (1998). Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. Letters in Applied Microbiology. 26(2): 118-122.

Vardapetyan, H.; S. Tiratsuyan; A. Hovhannisyan; M. Rukhkyan; and D. Hovhannisyan (2013). Phytochemical composition and biological activity of *Laurus nobilis* L. leaves collected from two regions of South Caucaus. Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences. 1(2): 24-51.

Verdian-rizi, M.; and D. Hadjiakhoondi (2008). Essential oil composition of *Laurus nobilis* L. of different growth stages growing in Iran. Zeitschriftfür Naturforschung C. 63(11-12): 785-788.

Vital, P.G.; and W.L. Rivera (2009). Antimicrobial activity and cytotoxicity of *Chromolaena odorata* (L. f.) King, Robinson, and *Uncariaperrottetii* (A. Rich) Merr. Extracts. Journal of Medicinal Plants Research. 3(7): 511-518.

Vogt, R.L.; and L. Dippold (2005). *Escherichia coli* O157: H7 outbreak associated with consumption of ground beef. Public Health Reports. 120(2): 174-178.

Comparison of Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Laurus nobilis* L. Leaves Essential Oil Collected from Different Locations

Sandy Douba*(1) Ahmed Shams ElDien Shaaban(2) Nawras AlAbras(3) and Yahya Kamari(4)

(1). Department. of Biotechnology, Faculty of Technological Engineering, Aleppo University, Aleppo, Syria.
(2). Department. of Biotechnology Engineering, Faculty of Technological Engineering, Aleppo University, Aleppo, Syria.
(3). National Commission of Biotechnology NCBT, Damascus, Syria.
(4). Aleppo Agricultural Research Center, General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR), Damascus, Syria.
(*Corresponding author: Eng. Sandy Douba. E-Mail: sandy_d14@hotmail.com).

Received: 28/10/2018 Accepted: 31/12/2018

Abstract

This study was carried out between March 2017 and May 2018. The leaves of *Laurus nobilis* L. were collected from Aleppo and Al-Nabk cities during flowering and fruiting stages. The essential oil was extracted using Clevenger and analyzed by gas chromatography and mass spectrometry (GC-MS). It was reported that the major compound in both oils was 1.8-cineole. Other predominant compounds of both oils were: Sabinene, α-Pinene, β-Pinene, Delta Careen. Antibacterial activity of the essential oil was tested against Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and three species of Gram-negative bacteria *(Escherichia coli, Klepsiella pneumonia* and *Pseudomonas aeruginosa)* using microdilution method. The concentrations of oil ranged from 1 to 100 µl/ml. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) were determined. The oils extracted during flowering stage showed higher antibacterial activity than fruiting stage against most species of tested bacteria except *Pseudomonas aeruginosa* that was resistant to the higher concentrations that were used. The antibacterial activity of Aleppo oil was higher than Al-Nabk oil.

Keywords: Essential oil, Water extraction, Gram-positive bacteria, Chemical composition, Antibacterial activity, Bay laurel.