J. Agric. Sci. Mansoura Univ., 30 (11):7205 - 7213, 2005

GC-MS, COUPLED OXIDATION β-CAROTENE AND DPPH· RADICAL OF *Salvia fruticosa* VOLATILE OIL.

Benkhayal, F.A.*; M.H. Al-Saadi; A.H. Al-Saadi***; H.M. Al-Sanousi ******

* Dept. of Food Science and Technology, College of Agric., University of Omar EL- Mukhtar, Libya

** Faculty of Pharmacy , University of Omar EL- Mukhtar, Libya

*** Dept. of Zoology, College of Sci., Univ. of Omar EL- Mukhtar, Libya

**** Dept. of Botany, College of Sci., Univ. of Omar EL- Mukhtar, Libya

كروموتوجرافيا الغاز المدمج بمطياف الكتلة (GC-MS) ، الأكسدة الاقترانية للبيتا كاروتين، الشقوق الحرة لمركب الـ .DPPH للزيت الطيار لنبات المريمية (*Salvia fruticosa*)

فهيم عبد الكريم بن خيال* ، محمد حمود السعدي**، علي حمود السعدي*** و حميدة مصطفى السنوسي ****

* قسم علوم وتقنية الأغذية – كلية الزراعة – جامعة عمر المختار– البيضاء– ليبيا

** كلية الصيدلة – جامعة عمر المختار – البيضاء– ليبيا

*** كلية العلوم – قسم الحيوان – جامعة عمر المختار – البيضاء– ليبيا

**** كلية العلوم – قسم النبات – جامعة عمر المختار – البيضاء– ليبيا

الملخص

استخلص الزيت الطيار للأوراق الغضة لنبات المريمية *Salvia fruticosa* النامي بمنطقة الجبل الأخضر بالجماهيرية العظمى بطريقة التقطير المائي بالبخار ، وكانت نسبة الزيت 0.7% وتم توصيفيه وتحليليه باستخدام TLC و GC-MS . بينت النتائج أن الزيت يحتوي على ست حزم رئيسية ذات قيم RF متفاوتة ، بينما أوضحت نتائج تحليل GC-MS إلى وجود ثلاثة وعشرون مركب تتواجد عشر منها بنسبة عالية(1,8-Cineole ، 1,8-Cineol Isomer، Camphor، Trans-β-Caryophyllene، α- Pinene ، β-Myrcene ، Linalool ، α-Terpineol ،α-Terpineol isomer ، αCamphene) مع انخفاض لنسبة Thujone بنوعيه α و β ذو التأثير السام لهذا المركب .

درس النشاط المضاد لأكسدة الزيت باستخدام طريقة الأكسدة الاقترانية للبيتاكاروتين وأيضا الشقوق الحرة لمركب الـ DPPH . بينت النتائج المتحصل عليها بفصل مكونات الزيت الطيار على ألواح TLC بواسطة مذيب بنزين:خلات الايثيل (4:96 v/v) أن الحزم المفصولة والتي لها قيم RF (0.21، 0.35، 0.93) أظهرت تأثيرا مضاد للأكسدة وذلك من خلال احتفاظها بلون الكاروتين الأصفر خلال اختبارها بالرش بالبيتاكاروتين . ولتأكيد هذه النتيجة ومعرفة مدى قوة هذه المركبات كمضادات للأكسدة فقد اجرى اختبار الأكسدة الاقترانية لقصر لون البيتا كاروتين ومقارنته بمركب الـ BHT كمضاد أكسدة قياسي .وقد أوضحت النتائج المتحصل اليها أن الأربع تراكيز المستخدمة أظهرت تأثيرا مضاد للأكسدة عند مقارنتها بقياسي الاختبار مع زيادة للنشاط بزيادة تركيز الزيت إلى الضعفين عند التركيزين 750،1000 ppm وذلك عند مقارنته بالتركيز 250 ppm .

وفي محاولة لتأكيد هذا التأثير وأيضا لمعرفة الميكانيكية التي يعمل بها هذا الزيت فقد أجري اختبار الشقوق الحرة لمركب الـ DPPH وقد بينت النتائج أن التأثير المضاد للأكسدة يعتبر ضعيف مقارنة مع اختبار قصر لون البيتاكاروتين حيث أعطت التراكيز المختبرة تأثير لا يتجاوز 20% مقارنة بمركب الـ BHT . و قد يعزى ذلك إلى أن المركبات الفعالة في الزيت الطيار تعمل بميكانيكية مختلفة عن ميكانيكية أعطاء الهيدروجين (H^+) .

المقدمة

تزايد في الآونة الأخيرة الاهتمام العالمي باستخدام المضافات الغذائية ذات الأصل الطبيعي بدلا من المضافات الصناعية وذلك بعد ظهور العديد من النشرات التي تتهم الأخيرة منها ومن بينها مضادات الأكسدة بأنها غير آمنة صحيا، وفي هذا الصدد تم الاتجاه نحو الكثير من المستخلصات النباتية كبدائل لهذه المركبات وقد تم بالفعل دراسة هذه المستخلصات سواء في صورتها الخام أو بفصل بعض مكوناتها الفعالة في صورة نقية ، والجدير بالذكر أن مضادات الأكسدة تعمل على تأخير أو منع حدوث الأكسدة سواء في الأغذية خاصة الدهنية منها أو داخل الكائن حيث تساعد على تأخير ومنع تكوين الشقوق الحرة مما يثبط تأثيراتها الضارة مثل حدوث الطفرات والتسرطن.

وقد خضعت نباتات العائلة الشفوية والمتميزة بزيوتها العطرية وذات الاستخدام الطبي والغذائي إلى مثل هذه الاختبارات بصورة مستفيضة للتأكد من خصائص زيوتها المضادة للأكسدة، ومن هذه الدراسات تلك التي أجريت من قبل Klem وآخرون (2000) على نبات الريحان *Ocimum sanctum* والتي أشار فيها إلى كفاءة الزيت الطيار المستخلص من الأوراق والسيقان الطازجة في إزالة الشقوق الحرة وتقليل الأكسدة . كما أظهر الزيت الطيار المستخلص بالتقطير المائي لنبات الزعتر *Thymus pectinatus* فعالية مضادة للأكسدة من خلال إزالة شقوق الهيدروكسيل وفوق الأوكسيد المتكونة (Vardar-Unlu *et al.*,2003).

كما أجرى الباحث Alma وآخرون(2003) دراسة على نبات البردقوش *Origanum syriacum* أشار فيها إلى أن الزيت الطيار المستخلص من أوراق هذا النبات بالتقطير بالبخار له تأثير قوي كمثبط للأكسدة وذلك من خلال اختزال الشقوق الحرة لمادة DPPH مقارنة ببعض مضادات الأكسدة الصناعية مثل BHT وحمض الاسكوربيك (Ascorbic acid). وفي دراسة على نوع أخر من هذا النبات *O. acutidens* أكد Sokmen وآخرون (2004) أن الزيوت الطيارة ومستخلصات الميثانول للأجزاء الخضراء لها فعالية قوية كمضادات للأكسدة عند أختبارها بالرش بالبيتاكاروتين واختبار الـ DPPH مقارنة ببعض مضادات الأكسدة الصناعية مثل BHT.

ويعتبر الزيت الطيار لنبات الميليسا *Melissa officinalis* والواسع الاستخدام في الطب الشعبي كمسكن للآلام أحد مضادات الأكسدة الطبيعية من خلال اختزاله لمادة DPPH واختزاله للشقوق الحرة (De Sousa *et al.*, 2004) . كذلك تظهر الزيوت الطيارة لنباتي الأكليل *Rosmarinus officinalis* والمريمية *Salvia officinalis* خصائص مضادة للأكسدة و هذا ما شجع على الاستخدام الواسع لإضافة الكثير من مستخلصات هذه النباتات لكثير من الأطعمة و المنتجات الغذائية (Karl - Werner , 2004).

واستكمالاً للدراسات السابقة في هذا المجال تهدف هذه الدراسة الى استخلاص الزيت الطيار كمكون أساسي هام واسع الاستخدام لنبات المريمية نوع *Salvia fruticosa* أو ما يعرف بتفاح الشاهي ومن ثم توصيفه والتعرف على مكوناته الفعالة باستخدام كروموتوجرافيا الغاز المدمج بمطياف الكتلة (GC-MS) Gas Chromatography–Mass Spectroscopy. واختبار فعاليته المضادة للأكسدة باستخدام ثلاث اختبارات متباينة الآلية تمثلت بالرش بالبيتاكاروتين وقصر لون البيتاكاروتين β-carotene bleaching و الـ (DPPH.) 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl .

المواد وطرق العمل

1-المادة النباتية :

جمعت الأوراق الطازجة لنبات المريمية *S. fruticosa* من منطقة الجبل الأخضر بليبيا في شهر مارس 2005 وتم التعرف عليها بالاعتماد على سلسلة الفلورا الليبية والجزء الخاص بالعائلة الشفوية (Jafri and EL-Gadi , 1985).

2-استخلاص الزيت الطيار :

استخلص الزيت الطيار من الأوراق الطازجة بالتقطير المائي Hydrodistillation باستخدام طريقة Balbaa وآخرون (1981)، حيث تم وزن 100 جم من أوراق النبات مع 600 مل من الماء المقطر ووضعت في منظومة التقطير وأجريت عملية التقطير لمدة 5- 6 ساعات، ثم أخذ ناتج عملية التقطير(الزيت والماء) بعد التكثيف وشبع بكلوريد الصوديوم Nacl ثم الاستخلاص بالايثر وإزالة الماء

باستخدام كبريتات الصوديوم اللامائية NaSO4 anhydrous، ثم التخلص من المذيب باستخدام جهاز المبخر الدوار Rotary evaporator والاحتفاظ بالزيت الناتج لإجراء الاختبارات .

3-كروموتوجرافيا الغاز- المدمج بمطياف الكتلة (GC- MS):

أجريت التحليلات الكيميائية للزيت بجهاز كروموتوجرافيا الغاز المدمج مع مطياف الكتلة (Shimadzu GC/MS – QPSOSOA, Software class 5000) في المركز الإقليمي للفطريات وتطبيقاتها – جامعة الأزهر – جمهورية مصر العربية . تم التعرف على عدد المركبات ومعامل الاحتجاز Retention time (RT) وتحديد نسبة المركب في الخليط. كما تم التعرف على نوعية المركبات عن طريق منظومة التحليل الطيفي للكتلة من مكتبة ويللي (Wiley Mass Spectrum database) وتحديد المجموعة الكيميائية التي ينتمي إليها المركب بمطابقة كل من القيمة الدالة للكتلة Molecular ion peak (M^+) والقيمة الأعلى نسبة (Base Peak) والنظام التجزيئي الطيفي مع العينة القياسية .

4- اختبارات التأثير المضاد للأكسدة:

4-1- طريقة الرش بالبيتاكاروتين:

فصلت مكونات الزيت الطيار (10 مايكروليتر) على صفائح TLC المغطاة بالسليكا جل F245 وذلك بمذيب بنزين: خلات الايثيل بنسبة (v/v 4:96) . ثم حسبت قيمة (RF) Relative fractionationلكل حزمة من حزم الزيت المفصولة و تم اختبار فعاليتها المضادة للأكسدة باستخدام طريقة الرش بالبيتاكاروتين وذلك طبقا لـ Partt و Miller (1984)، حيث اذيب 9 ملجم من البيتاكاروتين في 30 مل من الكلوروفورم وأضيفت قطرتين من حامض اللينوليك (Linoleic acid) النقي و60 مل من الايثانول، حيث رش هذا الخليط على الألواح. بعد عملية الرش عرضت الألواح إلى الضوء العادي لمدة 2-6 ساعات حتى يتم قصر لون البيتاكاروتين والحزم التي تحتفظ باللون الأصفر لأطول فترة ممكنة تمثل المكونات المضادة للأكسدة بحيث تتناسب كثافتها اللونية مع الفعالية.

4-2- طريقة قصر لون البيتا كاروتين β-carotene bleaching

في هذه الطريقة أذيب 0.02 من البيتاكاروتين في 100 مل كلوروفورم وأخذ منها 2 مل لتضاف إلى 0.04 جم من حمض اللينوليك و0.4 جم من tween-20 وبعد التخلص من الكلوروفورم باستخدام المبخر الدوار (عند درجة 50 °م) أضيف 100 مل من الماء المقطر المؤكسج، اخذ 5 مل من هذا المستحلب وأضيف إليه 2مل من الزيت الطيار المخفف (250، 500 ، 750 ، 1000 ppm). تم قياس الامتصاصية عند طول موجي 470 نانوميتر (مع الأخذ في الاعتبار تصفير الجهاز على عينة مكونة من الأيثانول فقط) فضلا عن وجود العينيتين القياسيتين، السالبة المكونة من نفس الكمية من المستحلب مضافا إليها 2 مل من الأيثانول، والموجبة المكونة من الكمية ذاتها من المستحلب مضافا إليها 2 مل من الـ BHT بتركيز 50 ppm . وضعت الأنابيب في حمام مائي عند درجة حرارة 50 °م وقرأت الامتصاصية بعد 30 دقيقة حتى اختفاء لون العينة القياسية السالبة (بحيث يؤخذ معدل القراءة لثلاثة مكررات) (Partt and Birac, 1979).

4-3- اختبار الـ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH :

أجرى الاختبار بالاعتماد على طريقة Kurcchi وآخرون (1980). مع بعض التحوير من خلال حساب الفعالية المضادة للأكسدة على أساس النسبة المئوية لمعدل اختفاء لون DPPH لخمس تراكيز من الزيت الطيار (500 ، 1000، 1500 ، 2000 ، ppm2500) وفقا للمعاملات التالية:

DPPH(Blank) الامتصاصية عند 517 نانوميتر لـ 4 مل من الأيثانول + 1 مل من 0.1 ملي مول من DPPH المذاب في الميثانول.

DPPH (Sample)الامتصاصية عند 517 نانوميتر لـ4 مل من العينية في الأيثانول +1 مل من 0.1 ملي مول من DPPH المذاب في الميثانول.

القياسي للعينة- الامتصاصية عند 517 نانوميتر لـ 4 مل من العينة في الأيثانول +1 مل من الميثانول.

حضرت المعاملات السابقة وروعي إجراء المزج الجيد للمكونات في كل معاملة ووضعت في حمام مائي على درجة 25 °م لمدة 30 دقيقة ثم قيست الامتصاصية، مع مراعاة تصفير جهاز مقياس الطيف

الضـــوئي(Spectrophotometer) باستخدام (4 مل أيثانول + 1 مل بيثانول) البعد تحت نفس الظروف السابقة وبعد اخذ القراءات طبقت المعادلة التالية لحساب النسبة المئوية لاختفاء لون الـــDPPH كما يلي:

$$\text{معدل اختفاء اللون (\%)} = \frac{\text{DPPH}^{\cdot}_{\text{(Blank)}} - \left(\text{DPPH}^{\cdot}_{\text{(Sample)}} + \text{DPPH}^{\cdot}_{\text{(قياسي للعينة)}}\right)}{\text{DPPH}^{\cdot}_{\text{(Blank)}}} \times 100$$

تكرر نفس الخطوات السابقة مع استبدال العينة بمحلول قياسي BHT(25، 50ppm) لحساب الكمية المقارنة.

النتائج والمناقشة

1- توصيف الزيت الطيار

جمعت نباتات المريمية *S. fruticosa* البري في منطقة شحات من الجبل الأخضر في ليبيا وحضر زيتها الطيار بلون أصفر وبإنتاجية عضوية قدرت بـ 0.6 % عند استخلاص أوراق العينة بالتقطير المائي. وبينت نتائج كروموتوجرافيا الغاز المدمج بمطياف الكتلة GC/MS (الشكل1، جدول1) لنفس العينة أن المركبات المتعرف عليها وصلت إلى 23 مركبا مع نسبة عالية لـ 10 مركبات (1,8-Cineole، 1,8-Cineole Isomer، Camphor، Trans-β-Caryophyllene، α-Pinene، β-Myrcene، Linalol، α-Terpineol، α-Terpineol Isomer، α-Camphene) مع انخفاض لمستوى الـ Thujone بنوعيه alpha و beta ذو التأثيرات السامة مع المركبات الأخرى. كما أشار Ali و Attila (1987) في تحليل كيميائي شامل على الزيت الطيار لخمسة أنواع من المريمية من ضمنها *Salvia fruticosa* لتحديد المكونات الكيميائية لزيوتها الطيارة بأستخدام كروموتوجرافيا الغاز(GC) إلى احتواء الزيت الطيار لهذا النوع على 20 مركبا حيث المكونات الرئيسية هي (1,8-Cineole، β-Pinene، Borneol، Camphor) ، وقد أشارت نفس الدراسة أشارت إلى ارتفاع عالي للمركب 1,8-Cineole السمي بنسبة عظمى وصلت إلى 55.5% مقارنة بهذه الدراسة والتي كانت بنسبة 8.12% .كذلك أشار Pitarokili وآخرون (2003) في دراسة للزيت الطيار لنفس النوع من النبات النامي في مناطق برية في اليونان عند استخلاصه وتحليله بنفس الطريقة إلى ارتفاع نسب مركبات الـ Camphor ، Cineole ، E-Caryopnyliene أيضا ، كذلك سجل نفس الباحث وجود ارتفاع في مركب Thujone بنوعيه alpha، beta الذي كان منخفض في هذه الدراسة (جدول1) مما يشير إلى انخفاض سمية نفس هذا النوع في ليبيا مقارنة بأليونان .

الشكل1: التحليل الأولي للمركبات الرئيسية للزيت الطيار المستخلص بواسطة التقطير المائي لنبات المريمية *S. fruticosa* باستخدام تقنية كروموتوجرافيا الغاز المدمج مع طيف الكتلة

حيث أشار Sivropoulou وآخرون (1997) إلى سمية مركبي Thujone و 1,8-Cineole عند ارتفاع تركيزها في زيت هذا النوع من خلال فعلها في قتل الإحياء الدقيقة كالفيروسات والبكتريا والفطريات وخلايا اللبائن مثل خلايا الـ Vero في كلية القرود الخضراء الإفريقية.

جدول1: التحليل النوعي للزيت الطيار المستخلص بواسطة التقطير المائي نبتة المريمية *S. fruticosa* باستخدام تقنية كروموتوجرافيا الغاز المندمج مع طيف الكتلة

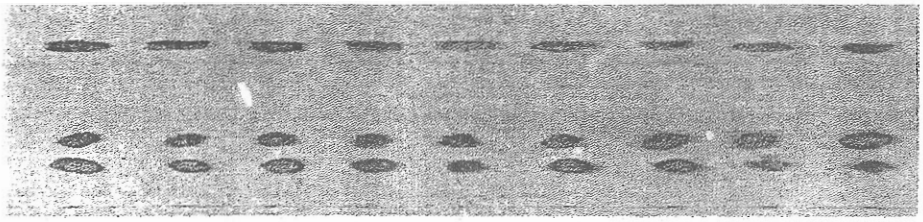
الاسم	الرمز الكيميائي	القمة العظمى	الكتلة	النسبة المئوية	معامل الاحتجاز
α-Pinene	$C_{10}H_{16}$	93	136	5.39	12.71
α-Camphene	$C_{10}H_{16}$	93	136	3.7	13.13
3-Octanon	$C_8H_{16}O$	43	128	0.24	13.511
β-Myrcene	$C_{10}H_{16}$	41	136	9.58	14.26
1,8-Cineole	$C_{10}H_{18}O$	43	154	8.12	15.1
Isomer 1,8-Cineol	$C_{18}H_{18}O$	43	154	7.7	15.28
γ-Terpinene	$C_{10}H_{16}$	93	136	1.16	16.008
Linalool Oxide	$C_{10}H_{18}O_2$	59	170	0.36	16.31
Linalol	$C_{10}H_{18}O$	71	154	6.42	16.6
α-Thujone	$C_{10}H_{16}O$	81	152	1.93	16.94
β-thujone	$C_{10}H_{16}O$	81	152	1.79	17.25
Camphor	$C_{10}H_{16}O$	95	152	15.58	18.31
α-Terpineol	$C_{10}H_{18}O$	59	154	4.17	18.92
Terpineol-4	$C_{10}H_{18}O$	71	154	2.09	19.39
α-Terpineol Isomer	$C_{10}H_{18}O$	59	154	10.62	19.86
1-Borneol	$C_{10}H_{18}O$	95	154	2.18	20.62
α-Copaene	$C_{15}H_{24}$	119	204	0.18	29
β-Bournene	$C_{15}H_{24}$	81	204	0.12	29.6
Trans-β-Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	41	204	8.11	31.78
Trans-β-Caryophyllene Isomer	$C_{15}H_{24}$	41	204	0.97	32.94
α-Humulene	$C_{15}H_{24}$	93	204	2.65	33.73
Ledene	$C_{15}H_{24}$	105	204	0.38	36.17
Cadinene Isomer	$C_{15}H_{24}$	159	204	0.83	37.45

2- التأثير المضاد للأكسدة للزيت الطيار لنبات المريمية :

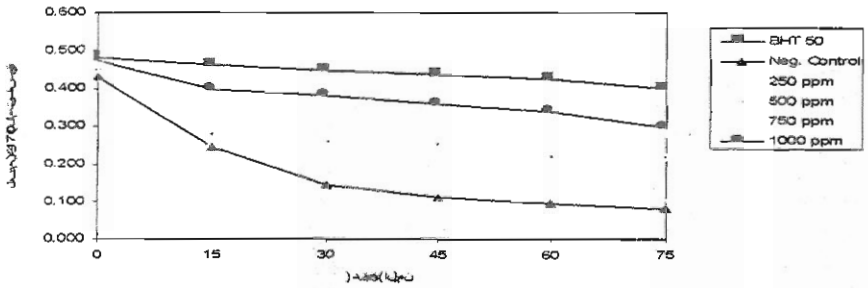
التأثير المضاد لأكسدة للزيت الطيار لنبات المريمية تم اختباره بواسطة الزئر بالبيتاكاروتين وحمض اللينوليك حيث اتضح من الشكل (شكل2) أن الحزم المفصولة بواسطة السليكا جيل بنزين : خلات الايثيل (96 : 4 V/V) والتي لها قيم RF = 0.93 ، 0.21 أعطت تأثيرا مضادا للأكسدة من خلال احتفاظها باللون الأصفر للبيتاكاروتين مقارنة بالحزم الأخرى ، ومما يدل على أن الزيت الطيار يحتوي على مركبات مضادة للأكسدة ولتأكيد هذه النتيجة فقد تم أجراء اختبار قصر لون البيتاكاروتين بطريقة الأكسدة الاقترانية لأربع تراكيز تدريجية من الزيت ومقارنتها بمضاد أكسدة قياسي تمثل في الـ BHT (شكل3) حيث أعطت التراكيز المختبرة تأثير أعلى من القياسي السالب مع زيادة للنشاط المضاد للأكسدة بزيادة التركيز ليصل إلى الضعفين عند التركيزين 750و1000 ppm مقارنة بالتركيز 250 ppm ، وكما هو متوقع أعطى الـ BHT تأثيرا قويا مقارنة بكل التراكيز خلال مدة الاختبار حيث أن التأثير المضاد للأكسدة ليس بالتأثير القوي جدا إذا أخذنا في الاعتبار التراكيز المرتفعة المستخدمة في الدراسة . وللوصول للتوافق بين

طبيعة المركبات في الزيت و الآلية التي يعمل بها الاختبار ، وفي محاولة لفهم الميكانيكية التي يعمل بها الزيت كمضاد للأكسدة وللتأكد من صحة النتائج اجري اختبار الـ DPPH (الشكل4) بتراكيز أعلى مقارنة بالاختبار السابق وأظهرت النتائج المتمثلة في النسبة المئوية لاختفاء لون الشق DPPH البنفسجي كدليل على الفعالية المضاد للأكسدة ارتفاع هذه الفعالية بزيادة التركيز بالرغم من الزيادة الطردية ، ألا انه كان محدود مقارنة بتركيزي الـBHT حيث لم يتجاوز التأثير 20% عند أعلى تركيز 2500 ppm .

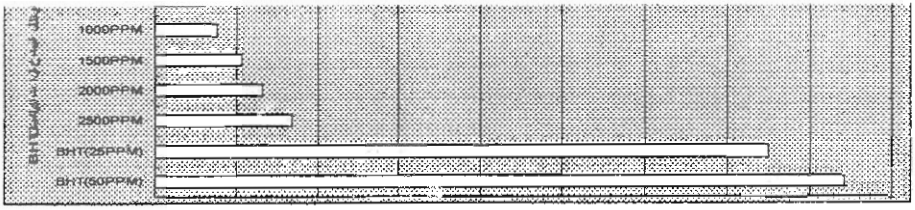
أن نتائج الاختبارات الثلاث والتي تشير إلى الكفاءة المحدودة للزيت الطيار رغم اختلاف الآلية التي يعمل بها ربما يرجع إلى إمكانية وجود مركبات فعالة مضادة للأكسدة لمركبات أخرى في النبات لا توجد في الزيت الطيار تبدي مثل هذه الفعالية وبتراكيز اقل وخصوصا الفينولية منها حيث سجل الزيت الطيار المستخلص في هذه الدراسة انخفاضا لمثل هذه المركبات (جدول1) . وقد أشارت دراسات أخرى إلى خلو الزيت الطيار لهذا النوع من المريمية على مثل هذه المركبات الفينولية المضادة للأكسدة (Dudai *et. al.*, 1999 and Pitarokili *et. al.*,2002) أو لعدم التوافق بين طبيعة المركبات في الزيت والآلية التي يعمل بها خاصة اختبار الـ DPPH ، وهذا ما دعا بعض الباحثين ا للجوء إلى مستخلصات خام أخرى غير الزيت الطيار . حيث أشار Wang وآخرون (2000) إلى أن مستخلص أوراق نبات المريمية *Salvia officials* الغني بالمركبات الفينولية مثل Rosmarinic acid و 1,6-D-glucopyranoside و 7-O-Dglucopyranoside و Dapiofuranosyl و Flavons Luteolin لها تأثيرات قوية كمضادات للأكسدة عند اختبارها بطريقة الـ DPPH. كما أكد Exarchou وآخرون (2002) أن المركبات الفينولية لنفس النبات لها تأثير قوي مضاد للأكسدة عند استخدام اختبار DPPH وقد يعزي هذا التأثير إلى مركبات Rosmarinic acid و Flavons Luteolin و Apigenin و Flavonol Queratin . وفي دراسة اخرى أجريت في الجماهيرية قام بها Benkhayal وآخرون (2005) أثبتت أن بعض المستخلصات العضوية وخاصة مستخلص الأيثر لها تأثير كمضاد للأكسدة عند استخدام اختبار قصر لون البيتاكاروتين وهذه الدراسات تؤكد أن التأثير قد يكون بمكونات أخرى غير الزيت الطيار .



شكل 2: التأثير المضاد للأكسدة لبعض الحزم المفصولة من الزيت الطيار لنبات المريمية *S. fruticosa* باستخدام اختبار الرش بالبيتاكاروتين



شكل 3: قياس النشاط المضاد للأكسدة لتراكيز مختلفة من الزيت الطيار لنبات المريمية *S. fruticosa* بطريقة الأكسدة الاقترانية للبيتاكاروتين



شكل 4: التأثير المضاد للأكسدة للزيت الطيار لنبات المريمية *S. fruticosa* مقارنة بمركب BHT في اختبار DPPH

كما أشارت بعض الدراسات الى أمكانية زيادة التأثير المضاد للأكسدة لهذا الزيت عن طريق إضافة مضادات أكسدة ثانوية معه مثل حمض الستريك Citric acid او الاسكوربيك بالميتيت Ascorpyl palmitate (Zainnddin *et al.*, 2002) .كما يمكن ايضا استخدام طرق اكثر دقة لاستخلاص المكونات الفعالة في الزيت مثل طريقة ثاني اكسيد الكربون فوق الحرجة Super dioxide carbon التي أشار أليها Ozcan (2003) عند اختباره بإضافته إلى الى زيت الفول السوداني Peanut oil .

المراجع

Ali, B. and Attila, A.(1987) . Composition of essential oils from Turkish Salvia species . phytochemistry . 26 (3) : 846-874 .

Alma ,M.H., Mavi ,A., Yildirim ,A., Digrak ,M. and T., Hirata. (2003). Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey .boil. Pharm. *26*(12) : 1725-1729.

Balbaa , S.I. , Hilal , S.H. and A.Y., Zaki (1981). Medicinal plant constituents, 3rd., Edition , General Organisation for University and School Books.

Benkhayal,F.A.,AL-Saadi,A.H.,AL-Saadi,M.H. and H., Wessal.(2005). Antioxidant activity of some Sage leave extracts . Arab Univ.J.Agri.Sci.*13*(3) :569-579.

De Sousa ,A.C., Alviano ,D.S., Blank ,A.F., Alves ,P.B., Alviano, C.S. and C.R., Gattass.(2004). *Melissa officinalis* L. essential oil: antitumoral and antioxidant activities .J .pharm. pharmacol. *56*(5): 677-681.

Dudai , N., Lewinsohn , E., Larkov , O ., Katzir , I ., Ravid , U., chaimovitsh , D., Saadi , and D. Putievsky . (1999). Dynamics of yield comontents and essential oil production in commercial hybrid sage *Salvia officinalis* & *Salvia Fruticosa*. CV. J. Agric . Food .chem. *47* (10) : 4341-4345.

Exarchou , V., Nenadis,N., Tsimidou ,M., Trogains , A.D. and I.P., Gerothanassis .(2002) .Antioxidant activities and phenolic composition of extracts from greek oregano , greek saga and summer savory . J.Agric . Food chem. .*50* (19) : 5294-5299.

Jafri ,S.M.S.H. and El-Gadi ,A.(1985). Flora of Libya . Department of Botany , Al-Faateh Univ ., Tripoli. 25-144.

Karl- Werner , Q. (2004). Antimicrobial extracts from *Usnea lichen* . Technology and services .

Klem , M.A., Nair , M.G., Strasburg ,G.M .and D.L., Dewith. (2000). Antioxidant and cyclooxygenase in hibitory phenolic compounds from *Ocimum sanctum* Linn . Phytomedicine . *7* (1): 7-13.

Kurcchi ,T., Kikugawa ,K. and T., Koto.(1980). Studies on the antioxidants . XIII. Hyrogen donating capability of antioxidants to 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl .chem. pharm. Bull . *28* (7) : 2089-2093.

Ozcan ,M.(2003). Antioxidant activities of rosmary , Sage and sumac extracts and their combinations on stability of natural peanut oil .J. Med . Food .*6*(3) : 267-270.

Part ,D.E. and Birac ,P.M.(1979).Source of antioxidant activity of soybean and soy products .J. Food . Sci . *44* .1720.

Part , D.E. and Miller , E.E. (1984). Aflavoniod antioxidant in spanish peanuts . JAOCS . *61* (6) : 1064-1071.

Pitarokili , D., Couladis , M., petsikos- Panayotarou , N. and O., Tzakou. (2002) . Composition and antifungal activity on soil- borne pathogens of the essential , m, moil of *S/alvia Sclarea* from Greece .J. Agric . Food . Chem . *50* (23) : 6688-6691.

Pitarokili ,D., Tzakou ,O., Loukis,A. and C., Harvala (2003).Volatile metabolites from *Salvia Fruticosa* as antifungal agent soil borne pathogens .J.Agric.Food chem. *51*(11) : 3294-3301.

Sivropoulou, A., Nikolaou, C., Papanikolaou, E., Kokkini, S., Lanaras , T., and M., Aresnakis. (1997). Antimicrobial, cytotoxic, and antiviral activities of *salvia fruticosa* essential oil. J. Agric. Food chem. *45*(8) : 3197-3201.

Sokmen ,M., Serkedjieva ,D., Gulluce ,M., Tepe ,B., Polissiou ,M., Akpulat ,H.A., Sahin ,F. and A., Sokmen.(2004). *In vitro* antioxidant , antimicrobial , and antiviral activities of the essential oil and various extracts from herbal plants and callus cultures of *Origanum acutidens* .J. Agric .Food. chem. *52*(11): 3309-3312.

Vardar – Unlu, G., Candan , F., Sokmen , A., Daferera , D., Polissiou , M., Skomen , M., Donmez , E . and B., Tepe. (2003). Antimicrobial and Antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch .et Mey . Var . Pectinatus (Lamiaceae) . J. Agric . Food. chem.. *51* (1) : 63-67.

Wang ,M., Jiangang ,L., Meera ,R., Yu ,S., Edmond ,J.; La ,V.; Tzou-chi ,H. and H., chi-Tang.(2000). Antioxidant phenolic compounds from sage (*salvia officinalis*).J. Agric .Food. chem.*46*(12) : 4869-4873 .

Zainuddin ,A., Pokorny ,J. and R., Venskutonis. (2002). Antioxidant activity of Sweetgrass Hierochloe odorata and sag (*Salvia officinalis*) extract in lard and rapessd oil emulsions: Nahrung . *46* (1) : 15-17 .

GC-MS, COUPLED OXIDATION βCAROTENE AND DPPH· RADICAL OF *Salvia fruticosa* VOLATILE OIL.

Benkhayal, F. A.*; M. H. Al-Saadi; A. H. Al-Saadi***; H. M. Al-Sanousi ******

* **Dept. of Food Science and Technology, College of Agric., University of Omar EL- Mukhtar, Libya**

** **Faculty of Pharmacy , University of Omar EL- Mukhtar, Libya**

*** **Dept. of Zoology, College of Sci., Univ. of Omar EL- Mukhtar, Libya**

******Dept. of Botany, College of Sci., Univ. of Omar EL- Mukhtar, Libya**

ABSTRACT

The volatile oil of *Salvia fruticosa* which was extracted from the green leaves using hydrodistillation had a yellow color/aromatic and its percentage was 0.7% . The oil was studded for its constitutes and antioxidant activity . GC-MS results showed the presence of twenty three component , ten of them were found in high (1,8-Cineole ، 1,8-Cineol Isomer ، Camphor ، Trans-β-Caryophyllene ،α-Pinene ، β-Myrcene ، Linalool ، α-Terpineol ،α-Terpineol isomer, αCamphene) .

The volatile oil was separated on silica gel plates using Benzene: Ethyl acetate (94:6 v/v) as a mobile phase. The separated bonds were sprayed by solution of β-carotene and linoleic acid , in order to determinate its antioxidant activity . only the bands of RF (0.21,0.35,0.93) showed an antioxidant effect. β-carotene bleaching test was used to measure the antioxidant effect and to compare its activity with BHT . The results revealed that a clear antioxidant activity of the oil when compared to blank .

In an attempt to understand the mechanism by which the oil act antioxidant , DPPH· free radical test was used . A weak antioxidant effect was obtained for the five increased concentration used in this study when compared to BHT at 25 and 50 ppm . this could be attributed to the fact that the oil contain compounds which act as antioxidant by different mechanisms rather than its donation of proton (H^+)